# MEMÓRIAS
## DO
# INSTITUTO BUTANTAN

1943

TOMO XVII

São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65

# MEMORIAS

DO

# INSTITUTO BUTANTAN

1943

TOMO XVII

São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65

# INDICE

Pag.

Noticiário ........................................................................ II

ARTHUR NEIVA ........................................................................ III

ALCIDES PRADO — Notas Ofiológicas.
15. Serpentes do genero Dryophylax, com a descrição de uma nova especie ..... 1
16. Um novo caso de bicefalia em serpente ..................................... 7
17. A posição do genero Rhadinaea em sistematica, com a descrição de uma nova espécie ..... 11

WOLFGANG BÜCHERL — Quilópodos do Perú ..................................... 19

JOSÉ M. RUIZ — Catadiscus freitaslenti, sp. n. (Trematoda: Paramphistomoidea), parasito de ofideo neotropico; observação sobre a presença de dois canais eferentes no genero Catadiscus COHN, 1904 ..... 29

JOSÉ M. RUIZ — Neoctangium travassosi, gen. n., sp. n. (Trematoda: Paramphistomoidea), parasito de quelonio marinho. Chave dos generos da familia Microscaphidiidae TRAVASSOS, 1922 ..... 35

P. de TOLEDO ARTIGAS; JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO — Algumas notas sobre o genero Opisthogonimus LÜHE, 1900. Descrição de Opisthogonimus serpentis, sp. n., Trematoide de ofideo ..... 47

JOSÉ R. do VALLE & LUIZ A. R. do VALLE — Substancias estrogenicas nos ovários das Crotalideas ..... 61

JOSÉ R. do VALLE & ANANIAS PORTO — Teor em acetilcolina da genitalia de ratos em diferentes condições hormonais ..... 65

ANANIAS PORTO — Farmacologia comparada do canal deferente do coelho normal e castrado ..... 75

ANANIAS PORTO — Sobre a passagem de substancias androgenicas nas parabioses de ratos castrados com ratos normais ..... 83

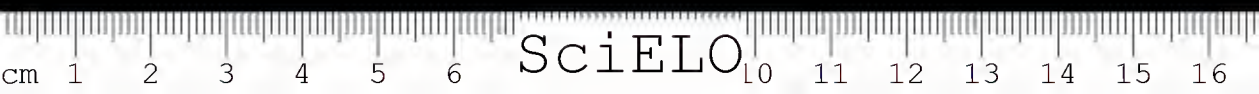
LUCIANO DÉCOURT & J. I. LOBO — Efeito da progesterona nas amenorreias...... 99

A. MARCONDES SILVA — Contribuição ao estudo de exoftalmo ..... 105

J. S. de MACEDO LEME & L. NOGUEIRA CARRIJO — Vacinação T. A. B.
1. Formação de aglutininas no homem resultante do emprego de vacina formolada ..... 111
2. Vacina formolada pela via intradermica ..... 117

J. S. de MACEDO LEME & L. NOGUEIRA CARRIJO — Nivel medio de aglutininas tificas em São Paulo. Contribuição para o seu conhecimento........ 121

LUCAS de ASSUMPÇÃO & JOSÉ CARLOS RIBAS — Incidencias de bacterias do genero Salmonella em ratos da Cidade de S. Paulo.................. 127

B. MARIO MOURÃO — O papel do estreptococo no penfigo foliaceo (fogo selvagem) Estudo clinico-bacteriologico ..... 141

## NOTICIÁRIO

Ao ser impresso o presente número das "Memorias", é a seguinte a relação do pessoal técnico superior das várias seções do Instituto Butantan:

**Diretor:**

FLAVIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA, Dipl. Med. (D. M.), Prof. Parasit. Esc. Paul. Med.

**Assistentes-chefes:**

ALCIDES PRADO, B. Cienc. & L.; Dipl. Med.
CICERO DE MOURA NEIVA, B. Cien. & L.; Dipl. Med. Veter.
JOAQUIM TRAVASSOS DA ROSA, B. Cienc. & L.; Dipl. Med.
JOSÉ BERNARDINO ARANTES, Dipl. Farm.; Dipl. Med. (D. M.)
MOACYR DE FREITAS AMORIM, Dipl. Med. (D.M.); Livre docente Anat. Patol. Fac. Med. S. Paulo; prof. catedratico Anat. Patol. Esc. Paul. Med.
PAULO MONTEIRO DE BARROS MARREY, Dipl. Med.
PLINIO MARTINS RODRIGUES, Dipl. Med.
SEBASTIÃO DE CAMARGO CALAZANS, Dipl. Med.

**Assistentes:**

ARISTIDES VALLEJO-FREIRE, Dipl. Med.
ARMANDO TABORDA, B. Cienc. & L.; Dipl. Quim.
FERNANDO PAES DE BARROS, Dipl. Farm.; Dipl. Med. (D.M.)
JANDYRA PLANET DO AMARAL, Dipl. Med. (D.M.)
JOSÉ RIBEIRO DO VALLE, B. Cienc. & L.; Dipl. Med. (D.M.); Prof. Farmacol. Esc. Paul. Med.

**Assistente-quimico**

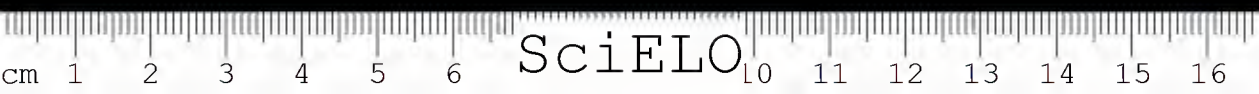
ANTONIO DE SALLES TEIXEIRA, Dipl. Farm.

**Assistentes-auxiliares**

ANANIAS PORTO, Dipl. Med.
FAVORINO PRADO JUNIOR, Dipl. Med.
GOSWIN KARMANN, Dipl. Quim. Ind.
JOSÉ IGNACIO LOBO, B. Cienc. & L.; Dipl. Med.; Livre docente Clin. Med. Fac. Med. S. Paulo; Prof. Clin. Doenças Tropicais Esc. Paul. Med.
LAURA COMETTE TABORDA, B. Cien. & L.; Dipl. Quim.
WOLFGANG BÜCHERL, Dipl. Fil. Biol. (D. Fil. Biol)

---

Toda a correspondencia cientifica, relativa às "Memorias", deve ser dirigida ao Editor, MEMORIAS DO INSTITUTO BUTANTAN
Caixa Postal 65
SÃO PAULO, BRASIL.

ARTHUR NEIVA
(1880-1943)

# ARTHUR NEIVA

A perda de Arthur Neiva, ocorrida no Rio de Janeiro a 6 de junho de 1943, afetando o proprio cerne da estrutura cientifica nacional, de que ele representava uma das fibras mais robustas, veio ferir profundamente o Instituto Butantan, ao qual se achava vinculado por laços cientificos, administrativos e de amizade que perduraram por quasi trinta anos.

Sua biografia, divulgada por autorizados periodicos cientificos, não cabe no espaço destas linhas, cuja finalidade é apenas recordar as estreitas ligações entretidas por Neiva com esta instituição.

De fato, foi em Butantan que Neiva, em 1917, levou a cabo, em colaboração com o saudoso cientista desta Casa, Florencio Gomes, um dos seus mais apreciados trabalhos de entomologia: o estudo experimental completo do caprichoso ciclo evolutivo do Muscideo causador da miiase de maior importancia pratica na região Neotropica, a *Dermatobia hominis* Linneo Jr., a mosca do "berne". Observando meticulosamente e acompanhando no laboratorio, pela primeira vez, cada uma das fases da evolução deste inseto, foi possivel estabelecer com firmeza a veracidade de observações esparsas, desfazendo as controversias reinantes, em trabalho hoje classico, publicado no vol. II da Coletanea de Trabalhos do Instituto Butantan.

Iniciativa de relevancia foi a da criação do *Horto Oswaldo Cruz*, destinado a incentivar o estudo e cultivo de plantas medicinais brasileiras, incorporado ao Instituto Butantan a 20 de fevereiro de 1918, tendo como responsavel nessa ocasião o conhecido botanico F. C. Höehne e como finalidade primordial o estudo das condições de cultura das quineiras, como se depreende da alocução inaugural que então pronunciou Neiva. Desde essa epoca já recuada previa Neiva a necessidade de emancipar o Brasil, em materia de medicamentos antimalaricos, da dependencia deprimente que até hoje perdura e da qual só agora nos procuramos corrigir. Quão melhor seria tivesse a sua voz de tecnico e de patriota encontrado então o merecido éco...

Criando, em 1919, o depois desaparecido *Instituto de Medicamentos Oficiais,* dotou Neiva o Butantan de um mecanismo complementar do Horto Oswaldo Cruz, no qual seriam preparados, como o foram durante alguns anos, principios medicamentosos de reconhecida eficacia, destinados a facilitar ao

Serviço Sanitario elementos de combate às principais endemias do interior, obra em que ainda uma vez demonstrou a necessidade, que sempre proclamara, de conjugar atividades da técnica com as da administração.

Não menor foi a influencia de Arthur Neiva no Butantan durante o periodo em que, estando acefalo o Instituto, assumiu a sua direção na qualidade de Diretor do Serviço Sanitario do Estado. Do interesse então demonstrado pelo curso dos trabalhos do Instituto, guarda o Butantan nos seus Arquivos atestados numerosos, dos quais salientaremos apenas o cuidadoso exame procedido nos Boletins notificadores de acidentes por ofidismo, então recebidos, todos por ele visados, e o prestigio de que cercou os trabalhos aqui realizados por Francisco Iglesias sobre o ofiofagismo dos carnivoros do genero *Conepatus*.

Ao prestar-lhe homenagem em sua publicação oficial, rende o Butantan à sua memoria o preito de um saudoso agradecimento pela dedicada atenção que lhe foi dispensada e pelo esforço exercido em prol do maior engrandecimento desta instituição.

598.121

# NOTAS OFIOLÓGICAS

## 15. Serpentes do gênero *Dryophylax*, com a redescrição de uma nova espécie.

POR

ALCIDES PRADO

Em principios do ano proximo passado, uma serpente recem-recebida de Gália, no Estado de S. Paulo, pela sua fisionomia e colorido, atraira a atenção do técnico dêste Instituto, sr. Tertuliano Beu. Tratava-se de um exemplar adulto, que chegara perfeitamente vivo ao seu destino. Um mês depois, outro exemplar, jovem, proveniente de uma localidade proxima daquela, dera entrada nas mesmas condições. Êste último, além de conservar todas as caracteristicas proprias ao primeiro, como êste, ostentava sôbre a 7.ª infralabial, de cada lado, u'a mancha vermelha, rutilante, carater que posteriormente foi observado em outros que, provindos dêste Estado, achavam-se há muito incluidos na coleção do Instituto Butantan, embora essa mancha, por vezes, recaísse sôbre a 6.ª.

Não tive dúvida em colocar o primeiro exemplar examinado, o qual escolhi para tipo, no gênero *Dryophylax* WAGLER, 1830, baseado no exame do cranio e no de outros caracteres genéricos. Êste gênero, resumidamente, assim se enuncia: cabeça coniforme, bastante alongada, pouco distinta do pescoço; angulosidades latero-ventrais aparentes; cauda geralmente longa, afilada e delgada; olhos moderados, com pupila redonda; subcaudais muito regulares.

É esta a razão pela qual Boulenger, em 1896, colocou as espécies *strigilis* e *pallidus*, outrora *nattereri* e *puntactissimus*, no gênero *Thamnodynastes* WAGLER, 1830, devido à existência, ao contrario do que se verifica com a espécie em estudo, de caracteres genéricos como êstes: olho grande, com pupila elíptico-vertical, e escamas lisas ou carinadas, com fossetas apicilares.

Contudo, o gênero *Dryophylax*, que necessita ser revisto, acha-se ainda, em parte, fundido ao gênero *Philodryas* WAGLER, 1930, tal como o compreenderam Duméril & Bibron, em 1854.

### *Dryophylax rutilus* PRADO

♀ — Corpo cilíndrico. Cabeça pouco distinta do pescoço. Dentes maxilares 18/19, mais ou menos iguais, separados dos dois últimos, sulcados e pouco desenvolvidos, por um curto intervalo. Olho moderado, com pupila redonda.

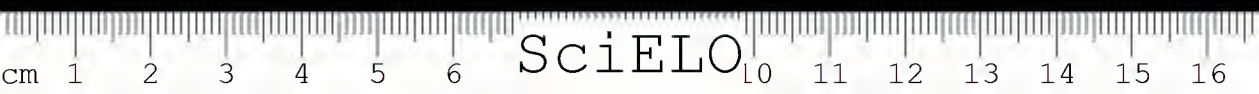
Rostral pouco mais larga do que alta, apenas visivel de cima; internasais quasi tão largas quanto longas, mais curtas do que as prefrontais; estas últimas tambem quasi tão largas quanto longas; frontal cerca de 2 vezes tão longa quanto larga, quasi tão longa quanto sua distancia da extremidade do focinho, pouco mais curta do que as parietais; loreal pouco mais longa do que alta; 1 pre- e 2 postoculares; temporais 2+3; 8/9 supralabiais, com 5/6 e 4/5, respectivamente, em contacto com o olho; 5/6 infralabiais em contacto com a mental anterior, que é pouco mais longa e mais larga do que a posterior. Escamas lisas, sem fossetas apicilares, em 19. Ventrais 127; anal dividida; subcaudais 64/64.

Cinza olivácea em cima, com numerosas manchas negras sôbre o dorso e cauda, as quais têm o aspecto de pingos de tinta, e com as escamas laterais pontilhadas de negro, nos bordos; cabeça de côr geral; labios branco-amarelados, com raras estrias negras nos bordos das labiais, e com um traço negro, lateral, do focinho adiante até pouco alem da comissura dos labios atrás, através do olho, e, ainda com u'a mancha vermelha, orlada de negro externamente, sôbre a parte posterior da 7.ª infralabial, de cada lado; partes inferiores amareladas, com uma barra negra sôbre cada margem das ventrais, que, em seu conjunto, forma uma listra longitudinal, de cada lado, e com finas granulações esparsas.

Comprimento total 565 mm; cauda 139 mm.

Holotipo, adulto ♀, sob o No. 10337, na coleção do Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil.

Procedência: Gália, Estado de S. Paulo, com data de recebimento: 8-IV-1942.

Próxima a *D. strigilis* (THUNBERG), que corre no centro e sul da país, da qual se diferencia pelas escamas dorsais, que são em 19-19-17, ventrais 127, ao invés de 19-19-15 e 137 ou mais, respectivamente, alem de que as escamas desta última podem ser lisas ou carinadas e portadoras de fossetas apicilares, ao contrário de *D. rutilus* PRADO, em que as mesmas são lisas e destituidas de fossetas. Quanto ao colorido, êle difere em *D. strigilis*, cujas manchas negras sôbre o dorso,

por confluência, podem formar listras longitudinais, e, ainda, pela falta da mancha rubra sôbre a 7.ª infralabial de cada lado.

Paratipos: 1, jovem ♀, sob o No. 10338, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Brasília, no Estado de S. Paulo, com data de recebimento: 11-v-1942.

E. 19; V. 124; A. 1/1; Subc. 60/60.

Comprimento total 320 mm; cauda 78 mm;

2, adulto ♀, sob o No. 1323, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Rebouças, no Estado de S. Paulo, com data de recebimento: agosto de 1917:

E. 19; V. 125; A. 1/1; Subc. 60/60.

Comprimento total 472 mm; cauda 124 mm;

3, adulto ♀, sob No. 1339, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Americana, no Estado de S. Paulo, com data de recebimento: outubro de 1917:

E. 19; V. 128; A. 1/1; Subc. 56/56.

Comprimento total 468 mm; cauda 113 mm;

4, adulto ♀, sob o No. 1377, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Pirambóia, no Estado de S. Paulo, com data de recebimento: setembro de 1917:

E. 19; V. 125; A. 1/1; Subc. 56/56.

Comprimento total 466 mm; cauda 113 mm.

## RESUMO

Neste trabalho, alem dos comentários sôbre a posição em sistemática do gênero *Dryophylax*, trata-se da redescrição de uma nova espécie, *Dryophylax rutilus* PRADO, a qual se baseia num exemplar procedente de Gália, no Estado de S. Paulo. Todos os paratipos estudados foram capturados neste Estado. A espécie em questão mostra-se afim de *D. strigilis* (THUNBERG). Entretanto, em vista das considerações expendidas, pensa-se que *strigilis* e *pallidus*, ambas colocadas no gênero *Dryophylax*, devem caber no gênero *Thamnodynastes*, a primeira da parte central e meridional e a segunda da parte setentrional do Brasil.

## ABSTRACT

This paper, besides discussing the systematic position of the genus *Dryophylax*, deals with the redescription of a new species, *Dryophylax rutilus* PRADO, based on a specimen provenient from Gália, State of S. Paulo. All the paratypes

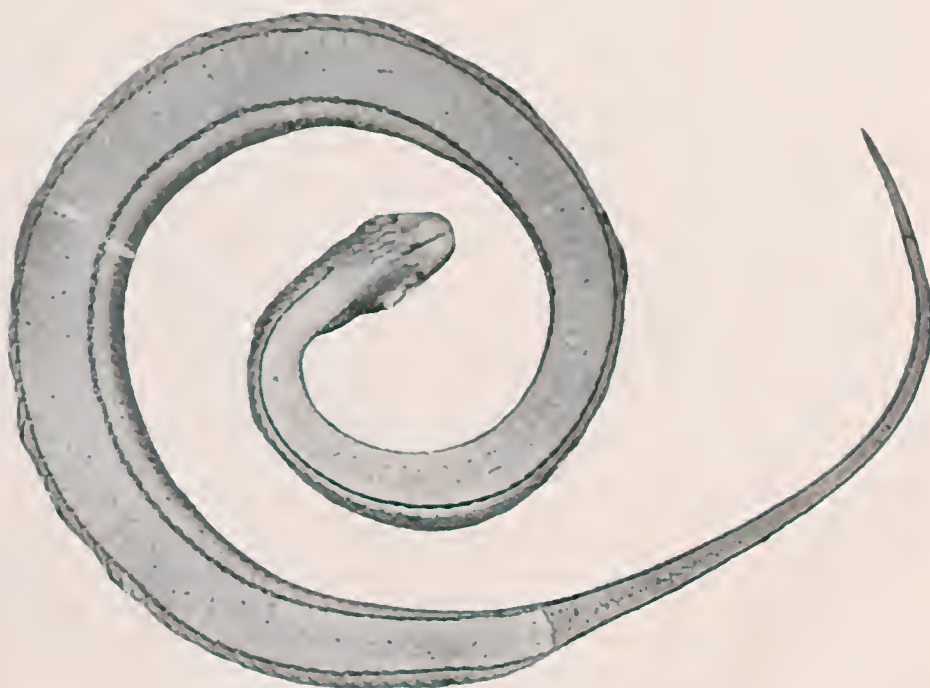
studied were caught in this State. The studied species is similar to *D. strigilis* (THUNBERG). However, in view of the expressed considerations, the author suggests that *strigilis* and *pallidus*, both placed in the genus *Dryophylax*, should belong to the genus *Thamnodynastes*, the former from Central and Meridional Brazil and the latter from Septentrional Brazil.

## BIBLIOGRAFIA

*Boulenger, G. A.* — Cat. Sn. Brit. Mus. *3*:115.1896.
*Duméril, A.* & *Bibron, G.* — Erpet. gén. *7*:1103.1854.
*Prado, A.* — Ciência (Mexico) *3*(7):204.1942.

(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 5-4-1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVII — 1943

*Dryophylax rutilus* PRADO (face d rsal).

*Dryophylax rutilus* PRADO (face ventral).

598.121:591.159

# NOTAS OFIOLÓGICAS

## 16. Um novo caso de bicefalia em serpente

POR

ALCIDES PRADO

As malformações observadas nos ofidios não são muito frequentes, embora assinaladas desde tempos remotos. Rédi, Aldrovandi, e mesmo antes dêles, Aristoteles, falavam já em serpentes de duas cabeças. Era na região cefálica que essas anomalias se verificavam mais comumente: descreviam-se, então, ofidios que, exibindo um só corpo, possuiam duas cabeças sustentadas por um simples colo. Tais casos eram e são denominados ainda hoje por atlodídimos.

Rédi, em 1684, examinou uma serpente bicéfala, que lhe chegou ás mãos perfeitamente viva, em que cada cabeça era mantida por um pescoço distinto. Neste caso, a espinha mostrava-se dupla pelo menos em curta extensão. Esta forma por êle estudada era venenosa e foi capturada numa das margens do Arno, em Piza, na Italia. Êsse mesmo autor teve ocasião de relatar o caso de uma outra serpente portadora de duas caudas.

Duméril & Bibron, tratando do assunto, dizem que ovos de ofidios existem que encerram, sob uma mesma casca, dois germes ou individuos vivificados. Do soldamento e do desenvolvimento posterior dêsses embriões, que são sempre elementos mais ou menos formados, resultam o aparecimento de monstruosidades, por excesso de partes geradoras.

Fischer, em 1868, e Johnson, em 1901, ocuparam-se pormenorizadamente da questão. O primeiro tentou uma classificação para casos desta natureza, consoante a séde das diversas aberrações, enquanto que o segundo fez uma resenha das anomalias até então verificadas nos ofidios.

Anadídimos, catadídimos e anacatadídimos são termos que, em teratologia, servem para designar essas monstruosidades, e relativas à duplicidade anterior, posterior ou de ambas extremidades do corpo, tanto nos ofidios, como nos demais vertebrados.

Amaral, em 1927, publicou 9 casos de bifurcação axial da cabeça, em serpentes provenientes da coleção do Instituto Butantan e dos museus norte-americanos.

Daniel, em 1941, relatou outro caso de bicefalia em serpente, ocorrido na Colombia, num exemplar jovem de *Bothrops atrox* (L.) ou "Mapaná equis", nome vulgar dêste ofidio naquele país, o qual media 325 mm de comprimento. Êste espécime, que foi capturado vivo, alimentou-se, diz o autor, provavelmente sem contratempos, a julgar pelo seu desenvolvimento. O ponto de união das duas cabeças fazia-se nos bordos das maxilas, de modo que os pescoços respectivos não se mostravam visiveis.

Em outubro de 1942, chegou a Butantan, procedente de Pedro Leopoldo, Estado de Minas Gerais, um espécime semelhante a êsse último. A observação do mesmo é a seguinte: trata-se de um exemplar jovem, ♀, conservado em alcool, da espécie *Leimadophis poecilogyrus* (Wied) ou vulgarmente "Cobra de capim", o qual foi depositado na coleção dêste Instituto, sob o No. 10370. Apresenta êle os seguintes caracteres específicos: escamas em 19, ao nivel do terço anterior com o terço medio do corpo, todas lisas e com uma fosseta apicilar; ventrais 157; anal dividida; subcaudais 57, pares. Cada uma das cabeças, as quais são muito identicas, assim se apresenta: 8 supralabiais, com a 4.ª e 5.ª em contacto com a órbita; 4 infralabiais em contacto com a mental anterior, que é tão longa quanto a posterior; 1+2 temporais, com exceção para a cabeça direita, lado externo, onde entre as posteriores surge uma ázigo. Sua côr geral é, em linhas gerais: cinza-olivácea em cima, com exceção de ambas as cabeças, que se mostram quasi inteiramente negras; manchas transversais irregulares dessa côr estampam-se sôbre o dorso; ventre esbranquiçado, onde sobresaem pequenos traços negros marginais. Comprimento total 182 mm; cauda 31 mm.

Nesta forma dicéfala, a pele das duas cabeças se une pouco abaixo das comissuras labiais respectivas. Embora a junção das duas cabeças se faça nessa altura, divisam-se dois pescoços nitidos, porem curtos, um para cada cabeça. As gulares de um e outro lado se juxtapõem. As ventrais mostram-se duplas no terço anterior do corpo. Pelo seu tamanho, parece ter êste exemplar vivido durante certo periodo de tempo.

Êste trabalho, em nota prévia, foi publicado pela "Ciência" do Mexico.

## RESUMO

Regista-se mais um caso de bicefalia em serpente, verificado numa forma jovem de *Leimadophis poecilogyrus* (Wied) ou "Cobra de capim", procedente de Pedro Leopoldo, no Estado de Minas Gerais, com data de captura: outubro de 1942.

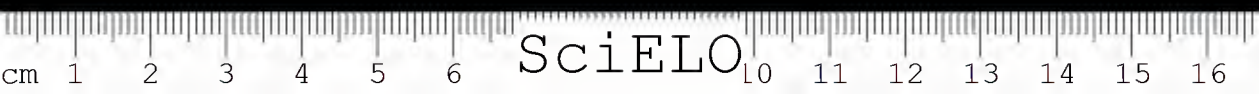
## ABSTRACT

Another bicephalic snake is recorded, represented by a young form of *Leimadophis poecilogyrus* (WIED) or "Cobra de capim", provenient from Pedro Leopoldo, State of Minas Gerais, with date of capture: october, 1942.


## BIBLIOGRAFIA


*Amaral, A. do* — Rev. Museu Paulista **15**:95.1927.
*Daniel, H.* — Rev. Fac. Nac. Agric. (Colombia) **3**(12): 1182.1941.
*Duméril, A. & Bibron, G.* — Erpet. Gén. **6**:209.1854.
*Fischer, G.* — Diploteratology, Albany, 1868.
*Johnson, R.* — Trans, Wisc. Acad. Sc. Art and L. :523.1901.


(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 5-4-1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVII — 1943

*Leimadophis poecilogyrus* (WIED)
(Forma anômala)

A mesma serpente, com a parte cefálica ampliada, onde se observam as duas cabeças.

598.121

# NOTAS OFIOLÓGICAS

## 17. A posição do gênero *Rhadinaea* em sistemática, com a descrição de uma nova espécie.

POR

ALCIDES PRADO

No intuito de esclarecer dúvidas porventura existentes no estudo das espécies de *Rhadinaea* e gêneros afins, me propuz examinar um bom número de serpentes dêste importante grupo. Posso, de início, dizer que os gêneros *Liophis, Dromicus, Lygophis* e *Rhadinaea* devem ser mantidos, a despeito das controversias. Cada um dêles apresenta caracteres que lhes são proprios, dentro de uma área de dispersão bem delimitada. Nem contra a lei de prioridade incidem; desta forma, estabelece-se, com algumas modificações, o "statu-quo" desde Boulenger, em seu Catalogue of Snakes of the British Museum 2.1894. Os caracteres cranianos, que invariavelmente pesquisei, levaram-me à convicção do parentesco existente entre as espécies representativas dêsses quatro gêneros do tipo diacranteriano, o que equivale a dizer: serpentes áglifas, onde os dentes posteriores, mais desenvolvidos, são separados dos demais por um intervalo curto ou longo.

Limito-me, por hoje, a estudar duas espécies de *Rhadinaea*, das mais representativas e, entre si, afins, *Rhadinaea affinis* (GÜNTHER) e *Rhadinaea poecilopogon* COPE, além de outra, muito próxima dessas mesmas, que descrevi como nova, e que denominei *Rhadinaea beui*, sp. n., oriunda da área de distribuição em que as duas primeiras ocorrem, e que vai do centro ao sul do pais.

O gênero *Rhadinaea* foi descrito por Cope em 1863, *in* Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia, pg. 101, tendo por tipo *Rhadinaea vermiculaticeps* (COPE). Êste gênero perfeitamente diferençavel de *Lygophis* e *Dromicus*, é, entretanto, apenas

separavel de *Lygophis*, por suas afinidades dentárias muito estreitas, e ausência em ambos, de fossetas apicilares das escamas.

*Rhadinaea affinis* (GÜNTHER)

*in* Cat. Col. Sn.: 128.1858 (*pro parte*).

Dentes maxilares em número de 16, aumentados gradativamente de tamanho de diante para trás, separados dos dois últimos, pouco desenvolvidos, por um curto intervalo; dentes mandibulares subiguais (Crânio No. 10181).

Cabeça proporcionalmente alongada, não muito distinta do pescoço, com focinho arredondado; olho pequeno, com pupila redonda. Corpo cilíndrico; escamas lisas, sem fossetas apicilares. Caula moderada ou longa, com ponta afilada.

Rostral mais larga do que alta, pouco visivel de cima; internasais mais largas do que longas, mais curtas do que as prefrontais; prefrontais tambem mais largas do que longas; frontal 1½ tão longa quanto larga, mais longa do que sua distância da extremidade do focinho, mais curta do que as parietais; estas últimas tão longas quanto sua distância das internasais; loreal pouco mais alta do que longa; 1 pre- e 2 postoculares; 1+2 temporais, com a 2.ª posterior muito longa; 7 supralabiais, 3.ª e 4.ª junto ao olho; 4 infralabiais em contacto com a mental anterior, que é mais curta do que a posterior. Escamas em 17. Ventrais 156 a 181; anal dividida; subcaudais 47 a 74, pares.

Cauda, aproximadamente, entre um terço a um quinto do comprimento total. Cinza-pardo em cima, com uma linha vertebral negra, constituida por pontilhados finos dessa côr, muito nítidos, e duas outras longitudinais, semelhantes a essa primeira, laterais, isto é, uma para cada lado; cabeça enegrecida, com uma faixa lateral negra, através dos olhos, a qual incide sôbre outra, transversal e muito larga, nucal; u'a mancha clara, triangular, atrás dos olhos; outra minuscula, redonda, tambem clara, sôbre cada uma das parietais; partes inferiores branco-amareladas, com exceção dos lábios, porções mentais, gulares e do pescoço, que são marmoradas de negro; um pontilhado negro, raramente dois, sôbre cada uma das extremidades das ventrais. As formas jovens exibem colorido idêntico.

Hemipenis pequeno, capitato, não dividido, com cálices numerosos e pouco profundos no ápice; sulco bífido; espinhos distribuidos no sentido longitudinal, em 4 fileiras semi-curvas, de cada lado, e aumentados gradativamente de tamanho do ápice à base, com um postero-basilar externo muito desenvolvido (Exemplar No. 10181).

### *Rhadinaea poecilopogon* COPE

*in* Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia :101.1863.

Dentes maxilares em número de 22, aumentados gradativamente de tamanho de diante para trás, separados dos dois últimos, pouco desenvolvidos, por um curto intervalo; dentes mandibulares mais ou menos iguais (Cranio No. 6974).

Cabeça proporcionalmente alongada, pouco distinta do pescoço, com focinho arredondado; olho moderado, com pupila redonda. Corpo cilíndrico; escamas lisas, sem fossetas apiciliares. Cauda longa, com ponta afilada.

Rostral mais larga do que alta, apenas visivel de cima; internasais pouco mais largas do que longas, mais curtas do que as prefrontais; prefrontais tambem mais largas do que longas; frontal cerca de 1 1/3 tão longa quanto larga, mais longa do que sua distância da extremidade do focinho, porém mais curta do que as parietais; estas últimas tão longas quanto sua distância das internasais; loreal tão longa quanto alta; 1 pre- e 2 postoculares; 1+2 temporais, com a 2.ª posterior mais longa; 7 supralabiais, 3.ª e 4.ª junto ao olho; 4 infralabiais em contacto com a mental anterior, que é mais curta do que a posterior. Escamas em 17. Ventrais 141 a 156; anal dividida; subcaudais 71 a 91 pares.

Cauda aproximadamente um terço do comprimento total. Pardo-olivácea em cima, com 4 linhas longitudinais negras: as duas primeiras, constituidas por pontilhados finos, medianas e equidistantes da linha vertebral; as duas outras, sob a forma de traço contínuo, laterais, isto é, uma para cada lado; cabeça enegrecida, com uma estria lateral clara, que parte do focinho e termina ao nivel da 2.ª temporal posterior; partes inferiores branco-amareladas, com exceção das porções labiais, mentais e gulares, que se mostram pintalgadas de negro; um pontilhado negro sôbre cada uma das extremidades das ventrais. As formas jovens não diferem em colorido.

Hemipenis mais ou menos idêntico ao de *Rhadinaea affinis*. Como diferença, apresenta, apenas, 3 fileiras de espinhos, ao invés de 4, e espinho postero-basilar externo mais desenvolvido (Exemplar No. 10431).

### *Rhadinaea beui*, sp. n.

Cabeça alongada, pouco distinta do pescoço, com focinho arredondado; olho moderado, com pupila redonda. Corpo cilindrico; escamas lisas, sem fossetas apiciliares. Cauda longa e afilada na ponta.

Rostral mais larga do que alta, apenas visivel de cima; internasais curtas, pouco mais largas do que longas, mais curtas do que as prefrontais; prefrontais mais largas do que longas; frontal uma vez e meia tão longa quanto larga, mais

longa do que sua distância da extremidade do focinho, mais curta do que as parietais; parietais tão longas quanto sua distância das internasais; loreal tão longa quanto alta; 1 pre- e 2 postoculares; 1+2 temporais; 7 supralabiais, 3.ª e 4.ª junto ao olho; 3/4 infralabiais em contacto com a mental anterior, que é mais curta do que a posterior. Escamas em 17-17-17. Ventrais 126; anal dividida; subcaudais 51, pares.

Pardo-cinza em cima, com 2 linhas longitudinais negras, laterais, uma para cada lado; cabeça da côr geral, com 2 manchas nucais claras, e um traço negro lateral, do olho atrás à comissura labial; partes inferiores branco-amareladas, com exceção das porções labiais, mental, gular e do pescoço, que são salpicadas de negro, e com um pontilhado da mesma côr sôbre cada uma das extremidades das ventrais.

Comprimento total 330 mm; cauda 90 mm.

Holotipo, adulto ♂, sob o No. 4730, na coleção do Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil.

Procedencia: Curitiba, Est. do Paraná, com data de recebimento: 12-XII-1928.

Paratipo, adulto ♂, sob o No. 8519, na mesma coleção, procedente de Hansa. Est. de Santa Catarina, com data de recebimento: 9-V-1934..

E. 17; V. 126; A. 1/1; Subc. 55/55.

Compr. total 368 mm; cauda 94 mm.

Próxima a *Rhadinaea poecilopogon*, da qual se distingue pelo número menor de ventrais e subcaudais (126 e 51/51 a 55/55, ao invés de 141 a 156 e 71/71 a 91/91, respectivamente), e pelo colorido geral, que é diferente de *Rh. poecilopogon.*

O nome desta espécie é dado em homenagem ao sr. Tertuliano Beu, técnico de laboratório, que exerce funções na Secção de Ofiologia, e que há mais de trinta anos trabalha neste Instituto.

## RESUMO

Dos comentários expendidos, depreende-se que o gênero *Rhadinaea* Cope, 1863, deva permanecer ao lado de outros, de igual parentesco, como sejam: *Liophis, Dromicus* e *Lygophis*. Para iniciar-se um estudo de revisão do citado gênero, redescrevem-se aqui *Rhadinaea affinis* e *Rhadinaea poecilopogon*, mediante o exame de todos os exemplares existentes na coleção dêste Instituto. A seguir, descreve-se, como nova, *Rhadinea beui*, sp. n., oriunda do sul do país, área em que tambem ocorrem as duas primeiras.

## *Rhadinaca affinis* (GÜNTHER)

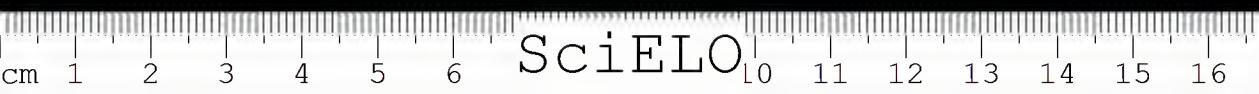
| Espécimes Nos. | Procedencia | Sexo | E. | V. | A. | Subc. | Labiais Supra | Labiais Infra j.m.e. | Oculares Pre | Oculares Post | Compr. em mm. Total | Compr. em mm. Cauda |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9430 | Itaquaquecetuba, S. Paulo . . | ♀ | 17-17-17 | 169 | 1/1 | 67/67 | 7 | 4 | 1 | 2 | 625 | 145 |
| 7784 | Serra Negra, S. Paulo . . . . | ♀ | 17-17-17 | 177 | 1/1 | 63/63 | 7 | 4 | 1 | 2 | 731 | 159 |
| 8969 | Caxias, R. G. do Sul. . . . . | ♀ | 17-17-17 | 178 | 1/1 | 72/72 | 7 | 4 | 1 | 2 | 550 | 115 |
| 9579 | Mafra, Santa Catarina . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 181 | 1/1 | 64/64 | 7 | 4 | 1 | 2 | 707 | 112 |
| 9348 | Mafra, Sañta Catarina . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 171 | 1/1 | 71/71 | 7 | 4 | 1 | 2 | 571 | 138 |
| 9854 | Caxias, R. G. do Sul . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 180 | 1/1 | 59/59 | 7 | 4 | 1 | 2 | 500 | 101 |
| 9290 | Itaquaquecetuba, S. Paulo . . | ♂ | 17-17-17 | 165 | 1/1 | 63/63 | 7 | 4 | 1 | 2 | 432 | 103 |
| 1244 | Nova Sardenha, S. Paulo . . | ♂ | 17-17-17 | 170 | 1/1 | 66/66 | 7 | 4 | 1 | 2 | 585 | 135 |
| 9884 | Caxias, R. G. do Sul . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 169 | 1/1 | 67/67 | 7 | 4 | 1 | 2 | 534 | 123 |
| 8831 | Jaguaré, (Cap.) S. Paulo . . . | ♂ | 17-17-17 | 162 | 1/1 | 71/71 | 7 | 4 | 1 | 2 | 430 | 110 |
| 9377 | Caxias, R. G. do Sul . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 171 | 1/1 | 72/72 | 7 | 4 | 1 | 2 | 548 | 135 |
| 4827 | Jaguaraiva, Paraná . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 174 | 1/1 | 70/70 | 7 | 4 | 1 | 2 | 564 | 126 |
| 9018 | P. de Caldas, Minas . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 178 | 1/1 | 72/72 | 7 | 4 | 1 | 2 | 502 | 131 |
| 8374 | Três Barras, S. Catarina. . . . | ♂ | 17-17-17 | 172 | 1/1 | 70/70 | 7 | 4 | 1 | 2 | 568 | 136 |
| 189 | Pantojo, S. Paulo . . . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 174 | 1/1 | 64/64 | 7 | 4 | 1 | 2 | 725 | 165 |
| 8834 | Caxias, R. G. do Sul. . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 173 | 1/1 | 57/57 | 7 | 4 | 1 | 2 | 474 | 96 |
| 7542 | Poá, S. Paulo . . . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 161 | 1/1 | 74/74 | 7 | 4 | 1 | 2 | 171 | 124 |
| 1231 | Pacau, Minas. . . . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 164 | 1/1 | 71/71 | 7 | 4 | 1 | 2 | 505 | 134 |
| 4517 | Alto da Serra, S. Paulo . . . . | ♀ | 17-17-17 | 174 | 1/1 | 67/67 | 7 | 4 | 1 | 2 | 525 | 125 |
| 8578 | Tijuca, D. Federal. . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 156 | 1/1 | 67/67 | 7 | 4 | 1 | 2 | 349 | 104 |
| 6343 | Floriano, Rio. . . . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 158 | 1/1 | 72/72 | 7 | 4 | 1 | 2 | 380 | 107 |
| 10009 | Barbosa Gonçalves R. G. do Sul | ♀ | 17-11-17 | 181 | 1/1 | 47/47 | 7 | 4 | 1 | 2 | 544 | 92 |
| 10056 | Curitiba, Paraná. . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 176 | 1/1 | 71/71 | 7 | 4 | 1 | 2 | 620 | 114 |
| 10181 | Rio Grande, S. Paulo . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 165 | 1/1 | 71/71 | 7 | 4 | 1 | 2 | 538 | 132 |
| 10205 | Rib. Pires, S. Paulo. . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 166 | 1/1 | 66/66 | 7 | 4 | 1 | 2 | 456 | 110 |
| 10243 | Alfredo Chaves, R. G. do Sul . | ♂ | 17-17-17 | 173 | 1/1 | 65/65 | 7 | 4 | 1 | 2 | 518 | 120 |

## *Rhadinaca poecilopogon* COPE

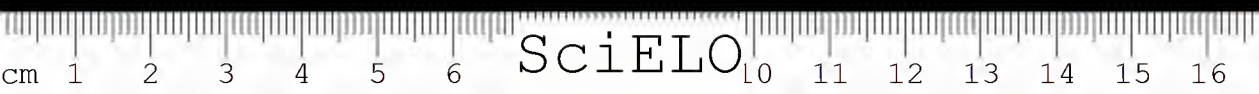
| Espécimes Nos. | Procedencia | Sexo | E. | V. | A. | Subc. | Labiais Supra | Labiais Infra j.m.e. | Oculares Pre | Oculares Post | Compr. em mm. Total | Compr. em mm. Cauda |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1364 | Poá, São Paulo . . . . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 147 | 1/1 | 91/91 | 7 | 4 | 1 | 2 | 558 | 180 |
| 6974 | Campo Grande, São Paulo . . | ♀ | 17-17-17 | 156 | 1/1 | 88/88 | 7 | 4 | 1 | 2 | 450 | 143 |
| 6990 | Curitiba, Paraná . . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 141 | 1/1 | 81/81 | 7 | 4 | 1 | 2 | 440 | 140 |
| 7159 | Guaranesia, Minas . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 152 | 1/1 | 75/75 | 7 | 4 | 1 | 2 | 360 | 107 |
| 7001 | S. João, São Paulo . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 150 | 1/1 | 85/85 | 7 | 4 | 1 | 2 | 400 | 126 |
| 454 | ? São Paulo . . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 144 | 1/1 | 78/78 | 7 | 4 | 1 | 2 | 351 | 111 |
| 4740 | Curitiba, Paraná. . . . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 141 | 1/1 | 79/79 | 7 | 4 | 1 | 2 | 239 | 72 |
| 1235 | Jacareí, São Paulo. . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 147 | 1/1 | 82/82 | 7 | 4 | 1 | 2 | 435 | 138 |
| 914 | Rib. Pires, São Paulo . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 144 | 1/1 | 84/84 | 7 | 4 | 1 | 2 | 372 | 119 |
| 7073 | C. Grande, São Paulo . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 150 | 1/1 | 77/77 | 7 | 4 | 1 | 2 | 445 | 135 |
| 4545 | Curitiba, Paraná . . . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 144 | 1/1 | 76/76 | 7 | 4 | 1 | 2 | 496 | 136 |
| 4732 | Curitiba, Paraná . . . . . . . . | ♀ | 17-17-17 | 149 | 1/1 | 71/71 | 7 | 4 | 1 | 2 | 434 | 116 |
| 190 | ? São Paulo . . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 150 | 1/1 | 80/80 | 7 | 4 | 1 | 2 | 386 | 119 |
| 10431 | Piraputanga, M. Grosso . . . . | ♂ | 17-17-17 | 148 | 1/1 | 90/90 | 7 | 4 | 1 | 2 | 408 | 134 |
| 10334 | Hansa, Sta. Catarina. . . . . . | ♂ | 17-17-17 | 143 | 1/1 | 74/74 | 7 | 4 | 1 | 2 | 366 | 113 |

## ABSTRACT

From the referred data, it can be concluded that the genus *Rhadinaea* Cope, 1863, should continue side by side with others, with the same relationship, such as: *Liophis, Dromicus* and *Lygophis*. To begin with a study concerning the revision of the genus referred to, *Rhadinaea affinis* and *Rhadinaea poecilopogon* are redescribed here through an examination of all the specimens contained in the collection of this Institute. Moreover, *Rhadinaea bcui*, n. sp., is described, provenient from the South of the country, where the other two species occur also.


(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 27-5-1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

*Rhadinaea beui*, sp. n. (face dorsal).

*Rhadinaea beui*, sp. n. (face ventral).

595.627

# QUILÓPODOS DO PERÚ

POR

WOLFGANG BÜCHERL

Em julho do ano passado recebemos, por intermedio de J. Sucoup, uma pequena coleção de *Chilopoda*, constituida de 43 exemplares, distribuidos para seis gêneros, coleção esta que, por pequena que seja, é, contudo, uma valiosa contribuição para a elucidação da distribuição geográfica, neotrópica, destes artrópodos, duplamente valiosa ainda pelo fato de ser a primeira vez que se capturam tantos Quilópodos no Perú, até agora quasi inexplorado neste sentido. Agradecendo ao ilustre colega, J. Sucoup, pela captura e remessa do citado material, passamos a descrevê-lo:

## 1. *Genus*: **Scolopendra** L., 1758

*Scolopendra morsitans* L., 1758 — 1 fêmea adulta, com 20 articulos antenais, colorido uniformemente escuro, com 5+5 dentes no coxosternum forcipular, com sulcos episternais muito leves e abreviados nos esternitos posteriores, sem esporão tarsal no 20.º par de patas, com apêndice coxopleural terminando em 5 pontas e com espinhos no prefemur do último par de patas distribuidos não em tres series longitudinais, mas com bastante irregularidade.

*Scolopendra viridicornis viridicornis* Newp., 1844 (*non* Bücherl) — 2 exemplares, machos, sendo um adulto e o outro jovem.

Procedencia: La Merced, 700 m acima do nivel do mar.

*Scolopendra viridicornis nigra* Bücherl, 1939 — 1 fêmea adulta. Quando em 1939, 40 e 41 estudavamos os exemplares de *S. viridicornis* da coleção do Instituto Butantan, pensámos que os caracteres morfológicos justificavam que *nigra* fosse considerada como uma nova subespecie. Em 1941, porém, tendo recebido mais material, descrevemos *nigra* apenas como *varietas*. Agora, finalmente, vendo que as duas formas ocorrem tambem nitidamente distintas no Perú, cre-

mos firmemente que se deve tratar de duas subespecies: *S. viridicornis viridicornis* NEWP. e *S. viridicornis nigra* BÜCHERL (vide Mem. Inst. Butantan **15**:282-283.1941).

*Scolopendra arthrorhabdoides* RIB., 1914 — 1 exemplar adulto.

*Scolopendra armata amancalis* subsp. nov.

| | |
|---|---|
| Comprimento da cabeça até ao último tergito: .............. | 38mm; |
| Comprimento das antenas: .................................. | 12mm; |
| Comprimento das últimas patas: ............................ | 13mm; |
| (pref. 3,7; fem. 3,3; tib. 2,8; 1.° tarso: 2,2. 2.° tarso: .... | 1mm; |
| Comprimento da placa cefálica: ........................... | 3,4mm; |
| Largura da placa cefálica: ............................... | 3,4mm; |
| Média da largura dos tergitos: ........................... | 3-3,3mm |

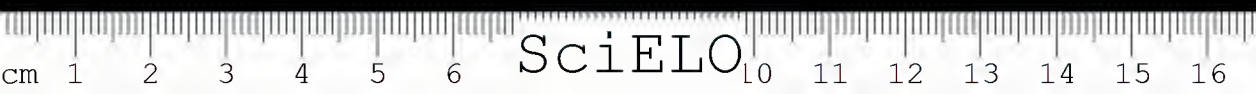
Dorso liso, sem brílho; amarelo uniforme, um tanto sujo; placa cefálica e último tergito amarelo vermelhos; esternitos amarelo claro; patas amarelo doirado. Placa cefálica lisa, com pontuações muito esparsas (Vide Fig. 1), quasi imperceptiveis; com 2 sulcos longitudinais muito leves, divergentes, apagados atrás, perto da borda posterior, estendendo-se apenas até a metade da placa (Fig. 1).

Antenas com 17 artículos; os dois basais desprovidos totalmente de pêlos; os dois seguintes sem pêlos no lado dorsal e numa estreita área ventral, pilosos lateralmente. Nos artículos seguintes pêlos muito densos, mas extremamente pequenos. Área, ao longo do "nodum" de cada articulação, amarelo claras e desprovidas de pêlos.

Placas dentárias (Vide Fig. 2) com um dente lateral, isolado e um bloco dentário, mediano, formado pela fusão de tres dentes. Atrás dos dentes, em cada placa, uma cavidade sub-redonda, com uma cerda forte no centro.

Sulcos basais das placas dentárias formando um ângulo de 100° mais ou menos; os mesmos sulcos continuam um tanto, em linha reta, no coxosternum forcipular (Fig. 2). Êste último com um sulco transversal nitido (Fig. 2), um tanto irregular, a estender-se até os telopditos, de cada lado. Sem sulcos laterais, além do curto prolongamento dos sulcos basais das placas dentárias. Pontuação do coxosternum muito pronunciada, porém em número restrito.

Tergitos com pontuação muito leve, diminuindo em número nas placas posteriores. Pontuação dos últimos tergitos quasi ausente.

Fossa anular do primeiro tergito (Fig. 1) muito profunda. Êste já com dois sulcos longitudinais, muito superficiais e convergentes na frente, indo até perto da fossa. Segundo tergito extremamente curto, com dois sulcos longitudinais muito superficiais, quasi imperceptiveis. Terceiro ao vigésimo tergito com dois

sulcos longitudinais imperceptiveis, indo da borda anterior até a posterior. Carenas laterais desde o quinto tergito, i. é, neste tergito começa a formação das carenas na metade anterior da placa, sendo que, nos tergitos seguintes, estas carenas se estendem sempre mais para trás, atingindo a borda posterior só nos vigésimo e vigésimo primeiro tergitos. O último sem fossa longitudinal mediana; a área mediana ligeiramente elevada, seguindo-se uma depressão central perto da borda posterior, protraída.

Esternitos com dois sulcos longitudinais muito mais nítidos do que os dos tergitos; completos já desde o segundo esternito e indo até ao vigésimo; mais profundos na frente de cada placa. Vigésimo primeiro esternito estreito, com bordas laterais ligeiramente reentrantes e borda posterior reta (Vide Fig. 3); sem sulco ou depressão mediana.

Primeiro par de patas com um esporão no femur, um na tíbia, dois no primeiro tarso; segundo ao vigésimo par de patas com um esporão no primeiro tarso; primeiro ao vigésimo primeiro inclusive com dois esporões na base da garra terminal, sendo de notar que no último par o esporão ventral é muito curto, enquanto que o lateral apresenta o seu pleno desenvolvimento.

Prefemur do segundo ao décimo nono par de patas com 3 espinhos muito pequenos no lado dorso-terminal, invariaveis em número e tamanho. Prefemur do vigésimo par de patas com ligeira ponta dorso-terminal, armada de quatro espinhos maiores e mais um na zona dorso-mediana; femur sem espinho algum, também não no lado ventral (numa pata observam-se duas manchinhas que poderiam ser confundidas com pequenos espinhos, mas que, em preparados montados em bálsamo, aparecem como simples manchas).

Coxopleuras com poros profundos (Fig. 3), relativamente numerosos. Apêndice coxopleural longo, cilíndrico, com seis + sete espinhos distribuidos em volta da ponta. Um pequeno espinho ainda, de cada lado, um pouco distante da ponta. Perto da carena do tergito, na ponta, existe também um pequeno espinho.

Prefemur do vigésimo primeiro par de patas sem espinhos nos lados dorsal e externo; nos lados ventral e interno existem 17 + 19 espinhos de diferentes tamanhos. "Espinho do canto" prefemural com seis + seis pontas; femur sem espinho algum.

*Tipo*: — Uma fêmea adulta na coleção quilopódica do Instituto Butantan.

*Local-tipo*: — Amancais (*vide nomen*), arredores de Lima, Perú. Altitude 300 metros aproximadamente. Encontrada sob pedras, em terreno francamente arenoso.

*Colecionador*: — J. Sucoup.

Confronto entre *S. armata armata* KRPLN. e *armata amancalis* subsp. nov.

| Comprimento | até 100 mm | 38 mm apenas |
|---|---|---|
| Sulcos longitnd. da placa cefálica | leves, mas inteiros, desde a borda anterior até a posterior | levissimos, existentes apenas na área posterior, sem atingir a borda posterior |
| Articulos basais das antenas | 5 sem pêlos | desde o 3.° já pêlos laterais |
| Coxosternum forcipular | com 1 sulco horizontal curto e 2 sulcos laterais, formando os 3 um perfeito triangulo | com sulco horizontal longo, indo de um telopodito ao outro; sem sulcos laterais |
| Tergitos | 1.° sem sulcos longitudinais , carenas laterais só no 21.° ou nos 3 últimos | com 2 sul. long. convergentes, carenas laterais principiando já desde o 5.° |
| 21.° esternito | com borda posterior arqueada | com borda posterior reta |
| Espinhos nas patas | 1 espinho minusculo só na borda dorsal posterior do 19.° par de patas, 1-2 no 20.° par e mais 2 no lado ventral<br><br>21.° prefemur com 8+12 esp.<br>"espinho do canto" geralmente simples<br>femur com 1-3 espinhos | 3 espinhos em todas as patas desde o 2.°-19.°; 20.° par com ponta armada de 4 espinhos e mais 1 na área mediana; ventralmente sem espinho.<br>com 17+19 espinhos<br>com 6+6 pontas espinhosas<br>sem espinho a'gum |
| Habitat | Venezuela | Perú, Lima, Amancais |

*Scolopendra armata armata* KRPLN., 1903 — 1 adulto.

*Scolopendra angulata angulata* NEWP., 1844 (*non* BÜCHERL) — 1 fêmea adulta. Este exemplar diferencia-se de *Scolopendra angulata moojeni* BÜCHERL, 1914 (*non angulata* B., Mem. Inst. Butantan **15**:119-123 *et* 294.1941) e de *Scolopendra angulata explorans* (CAMB., 1914), de maneira que forma um grupo geográfico nítido, subdividido em tres subespecies (conf. Mem. Inst. Butantan **15**:121-122 *et* 284-285.1941).

## 2. *Genus*: **Cormocephalus** NEWP., 1844

*Cormocephalus* (*C.*) *bonaerius* ATT., 1928 — 1 adulto; colorido amarelo pálido; comprimento 26 mm apenas; sulcos longitudinais da placa cefálica quasi invisiveis (segundo Attems bem visiveis, mas abreviados atrás, perto do bordo

posterior); placas basais muito pequenas (bastante desenvolvidas segundo Attems); 6 artículos basais das antenas desprovidos de pelos (segundo Attems 7-8); quanto ao resto não há diferenças morfológicas acentuadas com a especie de Attems. Seriam necessários mais exemplares para uma comparação mais segura, sendo, contudo, a primeira vez que esta especie é encontrada no Perú.

*Cormocephalus* (*C.*) *impressus impressus* Por., 1876 — 2 exemplares, tambem assinalados pela primeira vez no Perú.

*Cormocephalus* (*C.*) *andinus* (Krpln., 1903) — 1 exemplar adulto.

Local de captura: Amancais, arredores de Lima.

Esta especie já foi encontrada em Perú, no local, denominado Santa Ana, sendo frequente na Bolivia, na região vulcânica de Sorrate.

### 3. *Genus*: **Rhoda** Mein., 1886

*Rhoda calcarata calcarata* (Poc., 1891) (*non* Bücherl, 1941) — 2 exemplares, sendo um jovem. Os dois exemplares distinguem-se perfeitamente de *Rhoda calcarata carvalhoi* Bücherl (*nomen novum*, em substituição a *calcarata*, n. subsp., Mem. Inst. Butantan **15**:126-128 *et* 304.1941) pelos dois sulcos medianos da placa cefálica (muito mais longos e nítidos em *calcarata carvalhoi*); pelo número de articulos antenais e pela forma caraterística das coxopleuras.

E' a primeira vez que se assinala uma especie do gênero *Rhoda* no Perú.

Habitat: Amancais, arredores de Lima.

### 4. *Genus*: **Otostigmus** Por., 1876

*Otostigmus bürgeri* Att., 1903 — 1 macho adulto.

Habitat: Amancais, arredores de Lima.

Até agora apenas assinalado como oriundo de Villavincencio, na Colombia.

A presente especie aproxima-se morfologicamente a *Otostigmus* (*P.*) *limbatus diminutus* Bücherl, 1939 (*non limbatus B.*, Mem. Inst. Butantan **13**:271 *et* **15**:312.1941). *Otostigmus* (*P.*) *limbatus limbatus* Mein., 1886, é muito frequente na Argentina e no Paraguai e *limbatus diminutus* no Brasil, Estado de São Paulo, Alto da Serra.

*Otostigmus amazonae* Chamb., 1914 — 18 exemplares, sendo quatro jovens.

Habitat: Amancais, arredores de Lima.

Esta especie é muito frequente nos arredores de Manaos, Estado do Amazonas, Brasil, tendo sido encontrada até agora apenas uma única vez no Perú, na localidade de Paias Mayo.

### 5. *Genus*: **Rhysida** Wood, 1862

*Rhysida celeris* (Humb. & Sauss., 1870) — 1 exemplar adulto, pela primeira vez encontrado no Perú.

### 6. *Genus*: **Otocryptops** Haase, 1887

*Otocryptops ferrugineus sucoupi*, subsp. n. — Comprimento total (sem antenas e últimas patas) 52-61 mm. Tergitos amarelo-marrom; último tergito e placa cefálica vermelho tijolo; patas amarelas; esternitos e antenas amarelos (em *ferrugineus ferrugineus* (*L.*) antenas vermelhas; em *ferrugineus ferrugineus*, var. *parcespinosus* Krpln. antenas amarelas e pelos ferruginosos), como tambem os pelos das antenas.

Placa cefálica e tergitos lisos, brilhantes; pontuação da placa cefálica abundante e nítida, como tambem a dos tergitos anteriores, decrescendo, porém, em número e tamanho nos tergitos já sem pontuação alguma (em *ferrugineus ferrugineus* a pontuação é, segundo Attems, mais acentuada justamente nos últimos tergitos).

Antenas muito mais longas do que em *ferrugineus ferrugineus* e em *ferrugineus ferrugineus* var. *parcespinosus*, ultrapassando o quinto tergito; com 17 artículos, munidos de numerosos pelos curtos, iguais em comprimento nos últimos 12-13 artículos. Além destes pelos cerdas longas, mais raras, entretanto, nos 4-5 artículos basais, cerdas estas muito pouco numerosas na area dorsal dos primeiros dois articulos, de maneira que estes se apresentam lisos, brilhantes, quasi desprovidos de cerdas (em *O. ferrugineus ferrugineus* var. *parcespinosus* os artículos basais se apresentam cobertos de cerdas densas, vermelhas).

Bordo anterior do coxosternum forcipular arqueado, com um dente lateral bem desenvolvido (vide Fig. 1), obstuso na ponta (não agudo como em *parcespinosus* e em *f. riveti*) e mais um bloco dental mediano, quasi fundido no meio das placas dentarias, tres vezes mais largo do que longo (em *parcespinosus* apenas um pouco mais largo do que longo). Dente forcipular interno do prefemur menos do que os dentes laterais do coxosternum (em *O. ferrugineus ferrugineus* um tanto maior). Areas imediatas, em volta ao dente prefemural e aos dentes coxosternais cobertas por poucas cerdas longas. Coxosternum com uma rede, muito leve, de sulcos horizontais (ausentes em *ferrugineus ferrugineus* e em *ferrugineus ferrugineus* var. *parcespinosus*).

Placa cefálica um pouco mais larga do que longa, encobrindo totalmente a fossa subanular do primeiro tergito (em *ferrugineus ferrugineus* a fossa subanular é ainda visivel); sem sulcos longitudinais e sem carenas laterais.

Sulcos episcutais presentes desde o quarto ou quinto até o 21.º tergito, nos primeiros dois geralmente apenas posteriores, do sétimo para trás completos. Do 5.º ou 6.º até o 22.º tergito além disso um curto sulco mediano (ausente em *ferrugineus ferrugineus* e em *ferrugineus ferrugineus* var. *parcespinosus*) no bordo posterior. Carenas laterais desde o oitavo até o 22.º tergito, isto é, do 8.º ao 12.º apenas anteriores e curtas, nos tergitos seguintes sempre mais longas, atingindo o bordo posterior das placas nos tergitos 17-19 e sendo encurtadas novamente nos tergitos 20 e 22. Último tergito sem carenas laterais, em seu lugar uma linha reta.

Esternitos com pontuação fraca; sem fossa ou sulcos. Último esternito (vide Fig. 2) com bordo posterior levemente bilobado (simplesmente arqueado em *ferrugineus ferrugineus* var. *parcespinosus*); muito mais largo do que longo, estendendo-se lateralmente até quasi os bordos do tergito e encobrindo totalmente o campo poroso das coxopleuras (esta conformação morfológica do último esternito é completamente nova em todas as especies, subespecies e variedades do gênero *Otocryptops* HAASE).

Primeiro ao décimo nono par de patas geralmente com dois esporões tibiais, 20.º par com um esporão; 21.º e 22.º geralmente sem esporão tibial (em *ferrugineus ferrugineus* var. *parcespinosus* o 21.º par com um esporão tibial); 1.º ao 21.º par de patas com um esporão tarsal. Todas as patas com dois esporões menores na base da garra terminal. Lado dorsal das coxopleuras, perto da ponta terminal, sem espinho.

Apêndice coxopleural (Fig. 2) muito curto, terminando num espinho que não sobressai quasi da area circunvizinha (em *ferrugineus ferrugineus* var. *ferrugineus* a ponta é mais longa). Poros do campo poroso invisiveis por estarem inteiramente encobertos pelo último esternito (tornam-se visiveis através do esternito quando se umedece o animal em meio liquido) (vide Fig. 2). Campo poroso não atinge o tergum.

Prefemur das últimas patas (vide Fig. 3) com um espinho dorsal maior e um ventral muito pequeno.

Dimorfismo sexual secundario: Fêmeas com muitos pelos longos e densos na tibia e no tarso (vide Fig. 3), poucos pelos curtos no prefemur do último par de patas; machos com poucos pelos e curtos em todos os artículos destas mesmas patas.

Tipo: 1 fêmea adulta na coleção quilopódica do Instituto Butantan.
Paratipos: 2 machos adultos e 1 fêmea adulta na mesma coleção.
Local-tipo: Amancais, nos arredores de Lima, Perú.
Coletor: J. Sucoup, ao qual dedicamos esta subespecie.

Os exemplares da presente lista, cujo habitat não foi indicado, são oriundos de Amancais, arredores de Lima, Perú. Colecionador: J. Sucoup. Data de captura: junho e julho de 1942.

## ABSTRACT

The present paper deals with the description of *Chilopoda* from Peru, Amancais, in the neighbourhood of Lima, and caught by J. Sucoup.

The material counted with the following genera:
*Scolopendra* — 3 species and 5 subspecies (1 new subspecies).
*Cormocephalus* — 2 species and 1 subspecies.
*Rhoda* — 1 subspecies.
*Otostigmus* — 2 species.
*Rhysida* — 1 species.
*Otocryptops* — 1 new subspecies.

(Trabalho da Secção de Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 13 de julho de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

*S. armata amancalis*, subsp. nov.

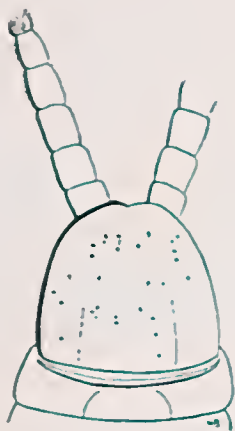



FIG. 1:
Placa cefálica e antenas

FIG. 2:
Coxosternum forcipular

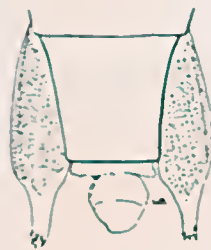



FIG. 3:
Último esternito e apêndices coxopleurais

*Otocryptops ferrugineus sucoupi*, subsp. nov.

FIG. 1:
Coxosternum forcipular

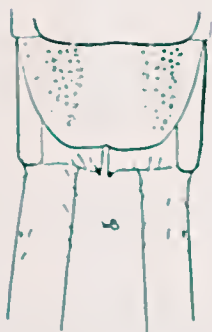



FIG. 2:
Último esternito

FIG. 3:
Última pata (na fêmea com cerdas longas na tibia e no tarso)

595.122

# *CATADISCUS FREITASLENTI*, SP. N. (*TREMATODA*: *PARAMPHISTOMOIDEA*), PARASITO DE OFÍDEO NEOTRÓPICO; OBSERVAÇÃO SÔBRE A PRESENÇA DE DOIS CANAIS EFERENTES NO GÊNERO *CATADISCUS* COHN, 1904.

POR

JOSÉ M. RUIZ

A primeira e única referência de um trematoide do gênero *Catadiscus* parasitando ofídeos devemo-la a Cohn; em 1903 descreveu, do intestino de *Chironius fuscus* (L), sob o nome de *Amphistomum dolichocotyle*, a espécie que no ano seguinte passou a constituir o tipo do gênero sob a denominação de *Catadiscus dolichocotyle* (COHN, 1903) COHN, 1904.

Todas as demais espécies incluidas neste gênero são oriundas de batráquios (*C. cohni* TRAV., 1926, *C. pygmaeus* (LUTZ, 1928), *C. marinholutzi* FREITAS & LENT, 1938, *C. uruguaiensis* FREITAS & LENT, 1938 e *C. inopinatus* FREITAS, 1941.

No decorrer de algumas necrópsias que vimos realizando na Secção de Parasitologia do Instituto Butantan obtivemos, do intestino delgado de *Liophis miliaris*, dois exemplares da espécie que passamos a descrever sob o nome de

*Catadiscus freitaslenti*, sp. n.

Diagnose específica.

*Diplodiscinae. Catadiscus.* Corpo sub-piriforme, alongado, com extremidade posterior mais larga, medindo 3, 11 a 3,15 mm de comprimento por 0,96 a 1,06 mm de largura, ao nivel da região equatorial. Cutícula inerme em toda a extensão do corpo.

Ventosa oral terminal, provida de dois diverticulos posteriores desenvolvidos com um comprimento menor que o do pre-faringe; mede a ventosa oral sem os diverticulos 0,205 a 0,217 mm de comprimento por 0,282 a 0,294 mm de largura;

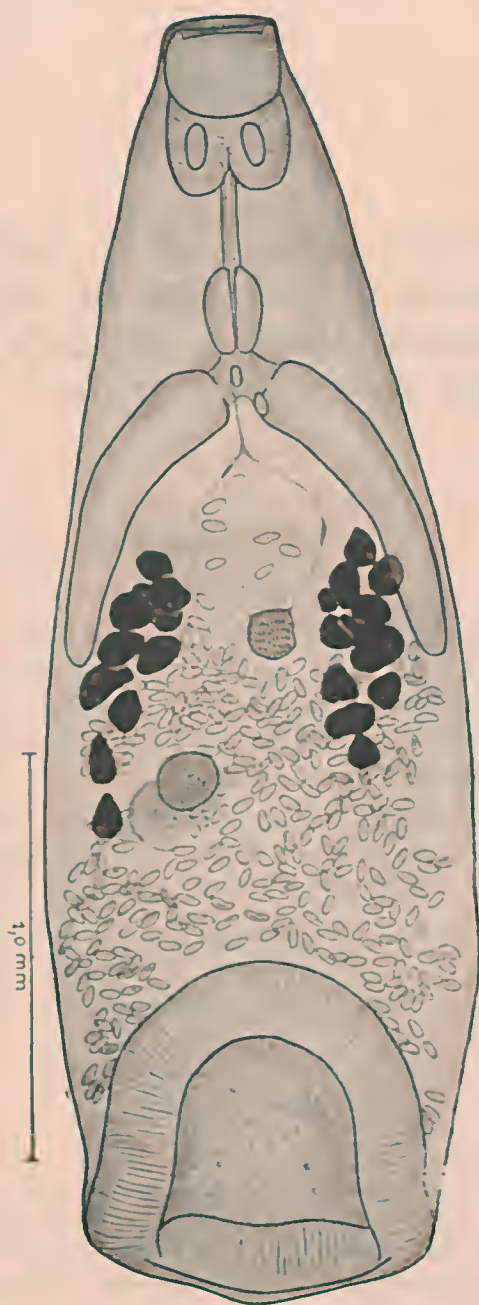



FIG. 1

*Catadiscus freitaslenti*, sp. n. Exemplar tipo.
Vista total.

os diverticulos medem 0,205 de comprimento por 0,305 a 0,311 mm de largura. Pre-faringe delgado com 0,364 a 0,411 mm de comprimento total, medindo desde a base da ventosa oral, sem os diverticulos. Faringe musculoso, elipsóide, com 0,205 mm de comprimento por 0,147 mm de largura. Esôfago quasi nulo. Cecos relativamente desenvolvidos atingindo a região equatorial do corpo, iguais ou desiguais; na espécie tipo são iguais e medem 0,749 mm de comprimento e 0,169 mm

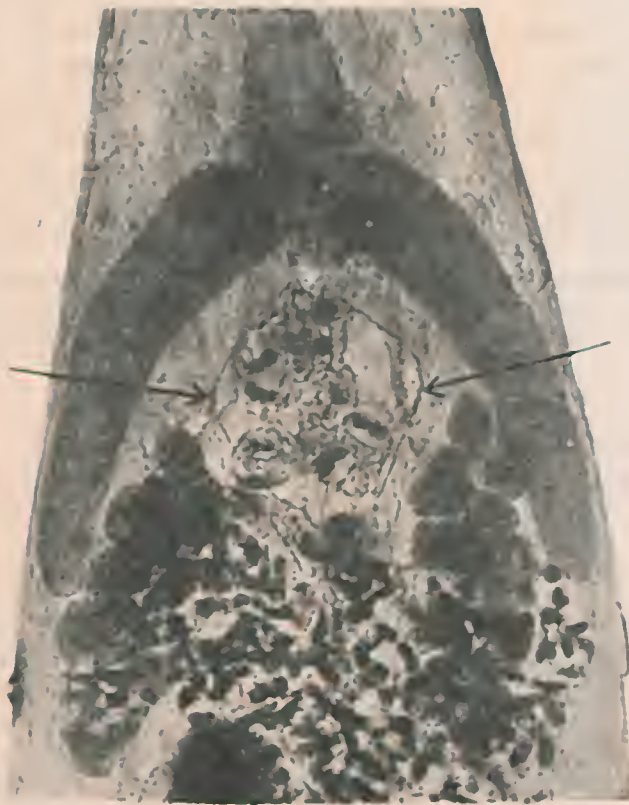



Fig. 2

*Catadiscus freitaslenti*, sp. n. Exemplar tipo. Microfotografia mostrando a região mediana do corpo. As flexas indicam os canais eferentes.

de largura maxima, medida na porção basal; no paratipo um mede 0,636 mm e o outro 0,791 mm. Acetábulo muito desenvolvido, subterminal, medindo 0,791 a 0,876 mm de comprimento por 0,777 a 0,791 mm de largura; um pequeno estrangulamento mediano, transversal, foi observado nos exemplares examinados vivos, sendo que no material fixado é pouco distinto. Testiculo único, pequeno, situado na região mediana do corpo e na zona cecal, medindo cerca de 0,115 mm de diame-

tro. Do testículo partem dois canais eferentes, um de cada lado, dirigem-se para a frente e, pouco antes de atingirem a altura da bifurcação cecal, se unem num canal deferente cujo trajeto foi acompanhado apenas em parte. A bolsa do cirro não foi bem observada, devido à intensa formação glandular na região esofagiana. Ovário arredondado, sub-mediano, situado lógo abaixo da linha equatorial, com um diâmetro que varia entre 0,169 e 0,199 mm. Glândula de Mehlis para ovariana, arredondada. Receptáculo seminal imediatamente atrás do ovário, da mesma ordem de tamanho que êste orgão. Útero extendendo-se desde a região bifurcal até a região acetabular, ocupando quasi toda a área do corpo. Vitelinos constituidos por foliculos relativamente volumosos e pouco numerosos, situados na região equatorial e distribuidos em dois grupos distintos e intracecais; o diâmetro dos folículos varia de 0,064 a 0,117 mm. Ovos de casca muito delgada, operculados, medindo 0,070 a 0,084 mm de comprimento por 0,033 a 0,053 mm de largura. Do aparelho excretor foram observados apenas os dois canais coletores principais que, partindo do nivel da zona acetabular, dirigem-se para a frente margeando as linhas do corpo, com um trajeto mais ou menos sinuoso, atingindo a altura da ventosa oral; estes ramos são facilmente visiveis por serem calibrosos e cheios de pigmentação escura. O sistema linfático não foi observado devidamente.

*Habitat*: Intestino delgado de *Liophis miliaris* (L.)

*Procedência*: Pederneiras — Estado de S. Paulo — Brasil.

*Tipo e paratipo*: Na coleção helmintológica do Instituto Butantan sob o No. 5.572.

---

A descrição e medidas se referem a dois exemplares comprimidos e montados. O nome especifico é dedicado aos drs. J. F. T. Freitas e Herman Lent do Instituto Oswaldo Cruz.

---

*Diagnose diferencial*: — *Catadiscus freitaslenti*, sp. n. distingue-se de todas as espécies conhecidas atualmente no gênero pelo tamanho da ventosa oral; outros caracteres a diferenciam ainda das referidas espécies:

*C. dolichocotyle* apresenta todas as dimensões menores e um único canal deferente.

*C. cohni* apresenta a ventosa oral muito menor que os diverticulos sendo êstes quasi do comprimento do pré-faringe, o que não se observa em *C. freitaslenti*, sp. n.; além disso os cecos são mais curtos e as dimensões, de um modo geral, menores com exceção dos ovos; canal *deferente* único.

*C. pygmaeus* diferencia-se em todas as dimensões. *C. marinholutzi* e *C. venezuelensis* diferem inicialmente pelo maior tamanho dos ovos. A espécie mais

próxima é *C. inopinatus*, todavia é possivel distingui-la pelos seguintes caracteres: menor tamanho da ventosa oral e dos divertículos; faringe menos volumoso; acetábulo relativamente menor; ovos maiores.

## OBSERVAÇÃO SOBRE A DUPLICIDADE DOS CANAIS EFERENTES

A constatação de dois canais eferentes numa espécie do gênero *Catadiscus* é muito digna de uma observação; com efeito, êste carater não foi ainda assinalado neste gênero, sendo peculiar ao gênero *Diplodiscus* DIES., no qual as espécies adultas apresentam os dois testiculos fundidos numa única formação glandular. Na descrição de *C. dolichocotyle* é referido um único canal deferente. Na espécie de Travassos o fato se repete (Travassos, pg. 279, Fig. 1; Freitas e Lent, pg. 307, Fig. 3). Em nenhuma das outras espécies foi referido este detalhe. A introdução da presente espécie entre os *Diplodiscus* não é possivel, hoje, nos moldes de sua definição; foge, por outro lado, pelo carater supra mencionado, da diagnose do gênero *Catadiscus*, constituindo como que *uma espécie de transição* entre os dois gêneros.

## ABSTRACT

In this paper a new trematode species is described, belonging to the genus *Catadiscus* COHN, 1904, found in the small intestine of a Brazilian snake. *Catadiscus freitaslenti*, n. sp., and *C. inopinatus* FREITAS, 1941, are very alike, however, they can be separated by the size of the oral sucker, pharynx, acetabulum, and the size of the eggs. *C. freitaslenti*, n. sp., presents two vasa efferentia, a common character of the genus *Diplodiscus* DIESING, 1836; this character is not observed in other species of the genus.

## BIBLIOGRAFIA

*Cohn, L.* — Zur Kenntnis einiger Trematoden — Centralbl. f. Bakt. I Abt., Orig., 34(1): 25-42. Figs. 1-4.1903.

*Bravo, H. M.* — Revision de los generos *Diplodiscus* DIESING, 1836 y *Megalodiscus* CHANDLER, 1923 (*Trematoda: Paramphistomoidea*) — Anales Inst. Biol. (Mexico) 12(1-2): 128-146 *et* 643-661. 17 Figs. 1941

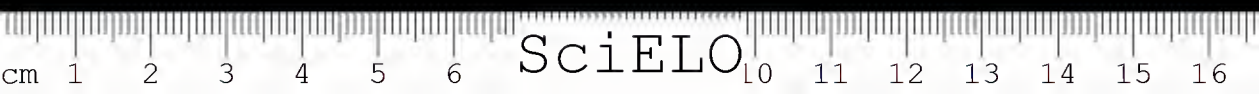
*Freitas, J. F. T. & Lent, H.* — Revisão do gênero *Catadiscus* COHN, 1904 (*Trematoda: Paramphistomoidea*) — Anexo n. 4 ao Relatorio de Excursão Cientifica do Instituto Oswado Cruz, realizada na zona da E.F.N.O.B., em outubro de 1938 *in* Boletim Biologico (N.S.) 4(2):305-315. Figs. 1-20.1939.

*Freitas, J. F. T.* — Novo trematodeo Paranfistomideo parasito de rã "*Catadiscus inopinatus*", n. sp. — Rev. Brasil. de Biol. 1(2): 121-123. Figs. 1-2.1941.

*Hughes, R. C.; Higginbtham, J. W. & Clary, J. W.* — The trematodes of Reptiles, part 11, Host Catalogue — Proc.of the Oklahoma Acad.Sc. 21:35-43.1941.

*Travassos, L.* — *Catadiscus cochni*, n.sp., novo trematodeo de batraquio — Sciencia Medica 4(6):278-279.Fig. 1.1926.

*Travassos, L.* — Synopse dos Paramphistomoidea — Mem. Inst. Oswaldo Cruz 29(1): 19-178.Fig.1-86.1934.

(Trabalho de colaboração dos Laboratorios de Parasitologia do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo. Entregue para publicação em 1.º de junho de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

# *NEOCTANGIUM TRAVASSOSI*, GEN. N., SP. N. *(TREMATODA: PARAMPHISTOMOIDEA)*, PARASITO DE QUELÔNIO MARINHO. CHAVE DOS GÊNEROS DA FAMILIA *MICROSCAPHIDIIDAE* TRAVASSOS, 1922.

POR

JOSÉ M. RUIZ

Da necropsia No. 2.127 efetuada na Seção de Parasitologia do Instituto Butantan em 4/12/1939, sobre uma tartaruga marinha proveniente de Santos (Praia Grande), resultou o encontro de numerosos trematóides localizados no intestino, dentre os quais o Paranfistomideo de que nos ocuparemos na presente nota; a sua inclusão num dos gêneros da familia *Microscaphidiidae* TRAV., 1922 na qual deverá ser enquadrado, não foi possivel dados os caractéres muito particulares que apresenta: julgamos conveniente a ereção de um novo gênero para a nova espécie, cuja diagnose daremos a seguir.

*Neoctangium travassosi*, gen, n. sp. n.

Diagnose especifica: *Microscaphidiidae*. Trematóide de tamanho médio: corpo alongado e relativamente espesso: extremidade anterior delgada: cutícula inerme em toda a superficie: extremidade posterior arredondada e apresentando uma projeção dorsal mais ou menos proeminente em cuja extremidade existe de cada lado, um espessamento muscular que termina em uma papila (papilas dorso-caudais); apresenta mais, a referida projeção dorsal, em sua parte média e inferior uma formação musculosa terminando em duas papilas juxtapostas (papilas caudais medianas); nota-se ainda na porção ventral da extremidade posterior, em posição quasi lateral, uma formação musculosa com duas papilas terminais, em cada lado do corpo, simétricas (papilas laterais). As expansões cuticulares que acabamos de referir se acham representadas esquematicamente na fig. No. 5. Esse conjunto sem dúvida serve à fixação do helminto no substrato sólido sendo uma modificação provavel do orgão acetabular. A ventosa oral é pequena, si-

Fig. 1

*Neoctangium travassosi*, gen. n., sp. n.
Exemplar tipo. Vista total.

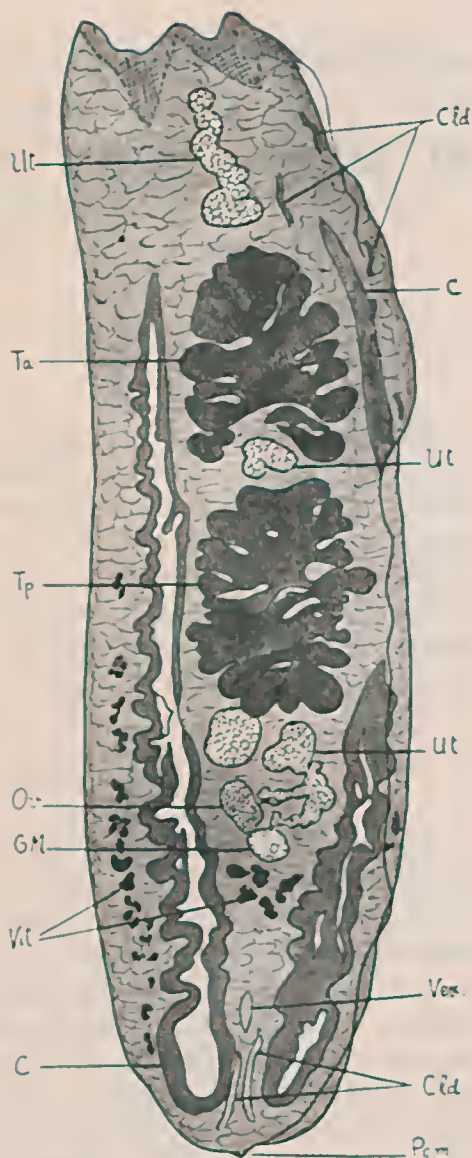



Fig. 2

*Neoctangium travassosi*, gen. n., sp. n. Desenho de corte sagital; região dorsal.

tuada terminalmente na extremidade anterior e provida de dois diverticulos orais caraterísticos deste grupo de trematóides.

O esôfago é muito longo e fortemente musculoso; apresenta uma parte dilatada logo atrás da ventosa oral estreitando-se depois até uma certa altura onde se dilata novamente dando formação a um desenvolvido bulbo muscular semelhante a um faringe (a esta dilatação que tem sido considerada como um verdadeiro faringe em outros paranfistomideos preferimos denominar bulbo esofagiano) que se bifurca antes de se diferenciar em cecos. Faringe ausente. Cecos de paredes muito grossas, tortuosos e largos, se extendendo até a extremidade posterior do corpo onde atingem a largura máxima. Testículos em número de dois, situados dorsalmente no terço médio do corpo, entre os cecos; muito desenvolvidos apresentam uma superfície profundamente lobada; têm os seus campos em coincidencia e suas zonas muito próximas ou juxtapostas. Bolsa do cirro ausente. Vesícula seminal longa e tubular com inicio logo acima do testículo anterior e dirigida para cima na direção do poro genital. Poro genital situado ao nível da linha mediana e a curta distancia da ventosa oral. Ovário de situação dorsal, sub-esférico, de superfície lisa, consideravelmente menor que os testículos, potesticular e paramediano. Glândula de Mehlis dorsal e atrás do ovário. Receptáculo seminal e canal de Laurer não foram observados nem nos cortes histológicos seriados. Útero consistindo num único ramo ascendente muito circunvoluido que se extende desde a zona ovariana até o poro genital ao longo da linha mediana e numa situação ventral, superpondo-se ao campo testicular, carater que não é observado em outro *Microscaphidiidae* com exceção de *Hexangitrema*; a densa massa de ovos existente ao nivel da zona ovariana impede, na quasi totalidade dos exemplares, a distinção deste último orgão que só é evidente em raros espécimes ou nos cortes; por essa razão deixamos de dar medidas deste orgão no quadro anexo; o seu tamanho poderá ser avaliado no exemplar tipo. Ovos numerosos, elipsóides, com um pequeno mas visivel operculo na extremidade mais delgada, de casca muito espessa (0,002-0,003 mm), medindo 0,081 a 0,095 mm de comprimento por 0,056 a 0,057 mm de largura. Vitelinos compostos de foliculos volumosos reunidos em três porções separadas: duas extracecais disseminadas desde a linha equatorial, limite inferior da zona do testículo anterior, até muito proximo da extremidade caudal; uma intracecal compreendida entre a zona ovariana e subterminal do corpo. Aparelho excretor não observado; poro excretor terminal, na linha mediana. Sistema linfático, observado em cortes, constituido por quatro pares de canais ou troncos longitudinais, sendo dois de situação ventral e dois de situação dorsal, ao longo das margens do corpo.

Hospedeiro: Tartaruga marinha (sp.?)
Localização: Intestino.
Procedencia: Praia Grande — Santos — Est. S. Paulo — Brasil.

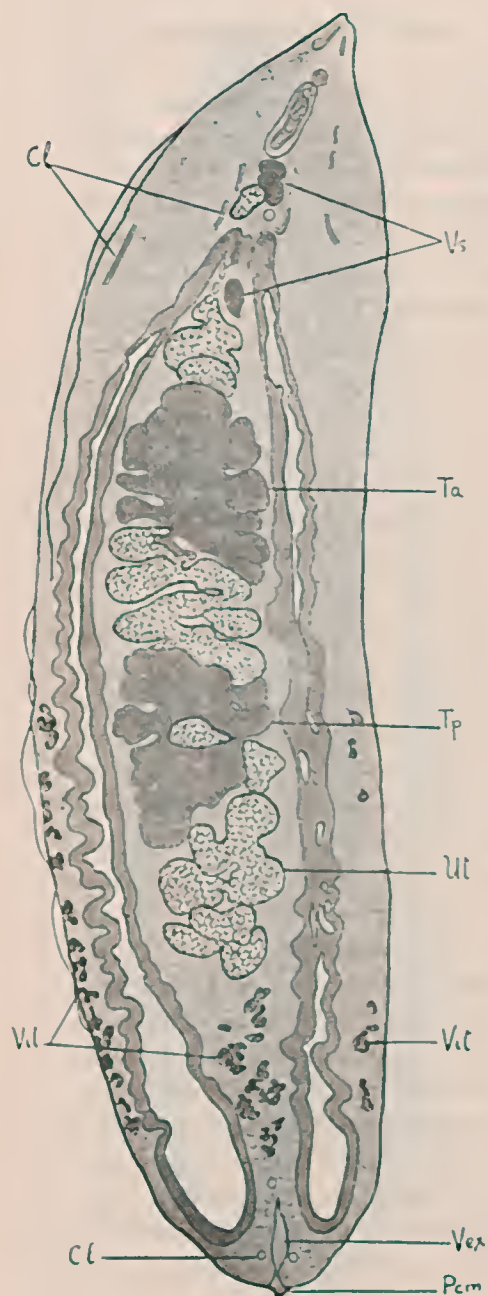



Fig. 3

*Neoctangium travassosi*, gen. n., sp. n. Desenho de corte sagital; região mediana.

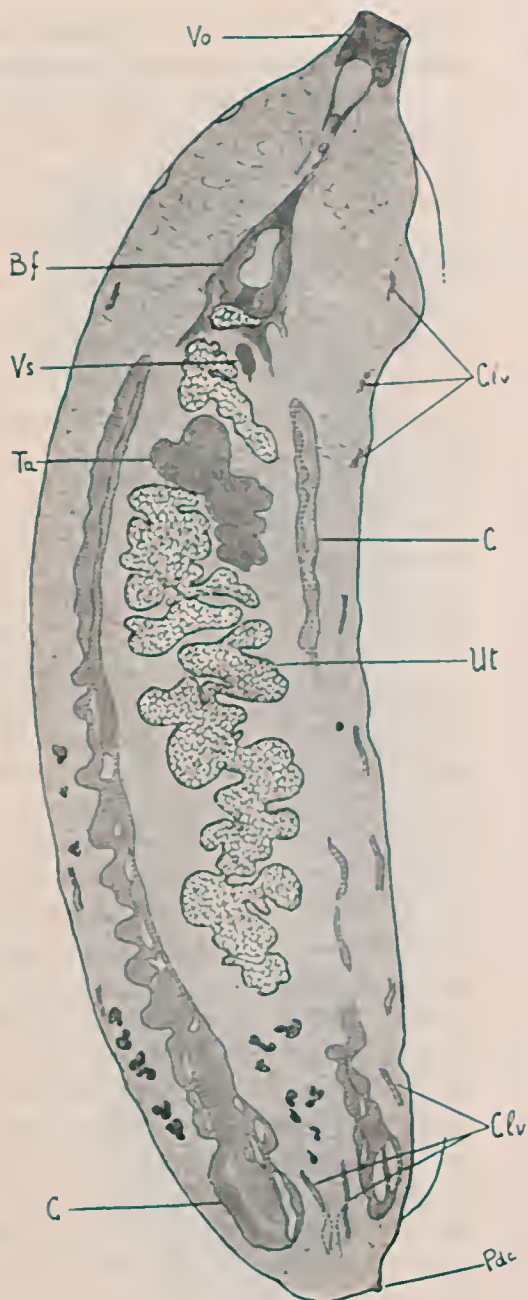



Fig. 4

*Neoctangium travassosi*, gen. n., sp. n. Desenho de corte sagital; região ventral.

Tipo e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Butantan sob o No. 3.098.

A presente espécie cujo nome dedicamos ao Prof. Lauro Travassos, do Instituto Oswaldo Cruz, foi descrita baseando-nos em 17 exemplares montados em

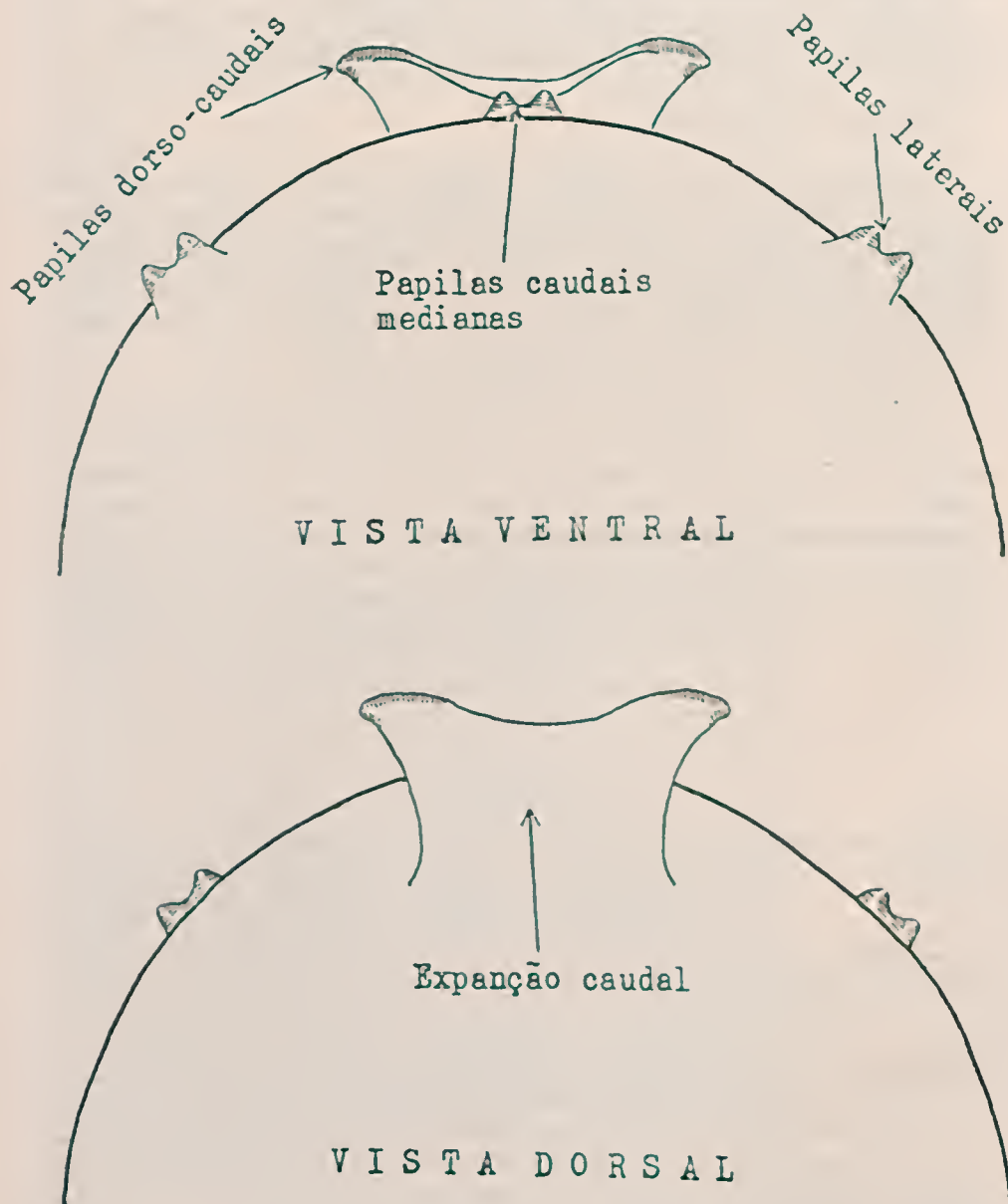



Fig. 5

*Neoctangium travassosi*, gen. n., sp. n. Desenho esquemático mostrando a disposição dos varios apendices caudais. Baseado em exemplares não montados.

toto-montagem e dois exemplares seccionados em cortes sagitais seriados; o lote todo é constituido por algumas dezenas de espécimes parte dos quais se acha conservada em formol acético.

Pelos magnificos cortes realizados agradecemos ao Sr. Francisco da Rocha Nobre, técnico da Seção de Fisiologia do Instituto Butantan.

Damos a seguir as principais medidas do exemplar tipo e um quadro de medidas, representadas em mm, realizadas sobre 10 exemplares paratipos.

*Exemplar tipo*: (Fig. No. 1)

Comprimento 11.15 mm: largura, medida ao nivel da região equatorial, 2,66 mm; ventosa oral: comprimento 0,372 mm, largura 0.558 mm; esôfago 2,66 mm de comprimento; testiculo anterior: comprimento 1,862 mm, largura, 1,330 mm; testiculo posterior: comprimento 1,862 mm, largura 1,330 mm; ovário 0,266 mm de diâmetro tranverso; Ovos: comprimento 0,086 a 0,095 mm, largura 0,058 a 0,070 mm, envólucro 0,002 a 0,002 mm de espessura.

QUADRO DE MEDIDAS DE 10 EXEMPLARES PARATIPOS:

| Exemplar | | a | b | c | d | e | f | g | h | i | j | Min. | Max. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Comprimento | | 8,64 | 9,31 | 9,84 | 9,76 | 9,97 | 9,84 | 9,04 | 7,98 | 9,97 | 11,17 | 7,98 | 11,17 |
| Largura | | 2,12 | 2,52 | 2,39 | 2,84 | 2,60 | 2,52 | 2,66 | 2,20 | 2,52 | 2,92 | 2,12 | 2,92 |
| Ventosa oral | C | 0,345 | 0,372 | 0,399 | 0,425 | 0,319 | 0,319 | 0,372 | 0,399 | 0,372 | 0,319 | 0,31 | 0,42 |
| | L | 0,425 | 0,425 | 0,372 | 0,505 | 0,425 | 0,478 | 0,452 | 0,399 | 0,552 | 0,558 | 0,37 | 0,55 |
| Esôfago | | 1,727 | 2,128 | 1,915 | 2,045 | 2,261 | 2,045 | 2,045 | 1,463 | 2,045 | 2,261 | 1,72 | 2,26 |
| Testiculo anterior | C | 1,463 | 1,996 | 1,727 | — | 1,862 | 2,045 | 1,727 | 1,996 | 2,045 | 2,261 | 1,46 | 2,46 |
| | L | 0,931 | 1,330 | 1,197 | — | 1,197 | 1,197 | 1,463 | 1,330 | 1,330 | 1,330 | 0,93 | 1,42 |
| Testiculo posterior | C | 1,463 | 1,862 | 1,862 | — | 1,649 | 2,261 | 1,996 | 1,996 | 1,862 | 2,128 | 1,43 | 2,26 |
| | L | 0,798 | 1,197 | 1,246 | — | 1,197 | 1,996 | 1,463 | 1,330 | 1,330 | 1,330 | 0,79 | 1,99 |
| Ovos | C | 0,086 | 0,087 | 0,086 | 0,089 | 0,095 | 0,095 | 0,095 | 0,081 | 0,089 | 0,089 | 0,08 | 0,10 |
| | L | 0,056 | 0,058 | 0,056 | 0,058 | 0,067 | 0,064 | 0,064 | 0,061 | 0,056 | 0,056 | 0,05 | 0,07 |

Legenda: C = comprimento; L = largura; Max. = maximo; Min. = minimo.

*Neoctangium* gen. n.

Diagnose genérica: *Microscaphäiidae*: corpo alongado com a extremidade anterior mais delgada. Cutícula lisa. Extremidade posterior apresentando uma larga projeção dorsal que termina em duas formações papilosas, de musculatura espessa, laterais, e duas pequenas papilas na parte médio-inferior; em posição mais ventral apresenta, em cada lado do corpo, um par de pequenas papilas reunidas numa projeção musculosa. Ventosa oral provida de dois diverticulos. Esôfago longo, muito musculoso, com uma formação bulbosa na base posterior, e bifurcando-se em Y invertido, semelhante ao gênero *Octangium*. Cecos largos, de paredes muito espessas atingindo a extremidade posterior do corpo. Testiculos profundamente lobados, situados na porção mediana do corpo, intracecais, com zonas juxtapostas ou próximas e campos coincidentes. Bolsa do cirro ausente. Vesicula seminal longa. Poro genital para-mediano logo abaixo da ventosa oral. Ovário pos-testicular, submediano, liso e muito menor que os testiculos. Receptáculo seminal ausente. Glândula de Mehlis próxima e inferior ao ovário. Canal de Laurer aparentemente não existe. Útero circunvoluido dirigindo-se da zona ovariana para a frente através do campo testicular. Ovos de casca espêssa, elipsóides, operculados e numerosos. Vitelinos repartidos em três grupos perfeitamente distintos de foliculos volumosos: dois ocupando a região extracecal, na metade posterior do corpo e um intracecal entre a zona ovariana e o limite cecal. Sistema excretor não observado. Sistema linfático apresentando quatro pares de troncos longitudinais. Parasito do intestino de quelônio marinho.

Esp. tipo: *Neoctangium travassosi* sp. n.

## DISCUSSÃO

O gênero que apresentamos se assemelha em certos aspectos com os gêneros *Microscaphidium* Looss, 1900, *Polyangium* Looss, 1902, *Octangium* Looss, 1902, *Octangioides* Price, 1937 e *Hexangitrema* Price, 1937.

O gênero *Microscaphidium* difere pelos caractéres seguintes: diverticulos orais longos; esôfago provido de espinhos; tipo diverso de útero; sistema linfático com três pares de troncos longitudinais; ausência de projeções terminais.

O gênero *Polyangium* se distancia pelo tipo de vitelinos e das circunvoluções uterinas, pelo sistema linfático, constituido por apenas dois pares de troncos longitudinais e pela ausência de projeções na extremidade posterior do corpo.

*Octangium* é o gênero mais próximo diferindo no entanto pelo tipo da projeção terminal e por não apresentar formações papilosas na extremidade posterior do corpo, caráter que afasta igualmente os gêneros *Octangioides* e *Hexangitrema* de *Neoctangium* gen. n.

Na chave seguinte damos os caractéres principais que diferenciam os vários gêneros incluidos na familia *Microscaphidiidae* Travassos, 1922:

1 — Extremidade posterior do corpo apresentando uma saliência bicônica ou escavações terminais ........................................................................ 2
Extremidade posterior do corpo lisa e arredondada ............................ 6

2 — Ventosa para-genital (ventosa genital?) presente... *Denticauda* Fukui, 1929 n. comb.
Ventosa para-genital ausente .................................................... 3

3 — Presença de 4 pares de papilas na região caudal ............. *Neoctangium* n. g.
Ausencia de papilas na região caudal ......................................... 4

4 — Vitelinos dispostos em três campos distintos: dois extracecais e um intracecal; parasito de quelôlinos .............................................. *Octangium* Looss, 1902.
Vitelinos dispostos em dois campos distintos, extracecais; parasito de peixes........ ....................................................... *Hexangitrema* Price, 1937.
Vitelinos em forma de *U* ou de *V* ........................................ 5

5 — Circunvoluções uterinas disseminadas na região intra-, post- e extracecal; vitelinos em forma de *U*; parasito de peixes....................... *Parabaris* Travassos, 1922.
Circunvoluções uterinas intracecais; vitelinos em forma de *V*; parasitos de quelônios ................................................ *Octangioides* Price, 1937.

6 — Superficie ventral do corpo apresentando fileiras longitudinais de formações glandulares. ........................................................ *Deuterobaris* Looss, 1900.
Superficie ventral do corpo não apresentando fileiras longitudinais de formações glandulares ................................................................ .. 7

7 — Gonadas post-cecais no terço posterior do corpo... *Hexangium* Goto & Ozaki, 1929.
Gonadas intracecais no terço medio do corpo ................................ 8

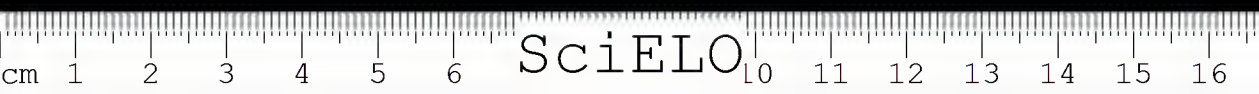
8 — Diverticulos orais longos; esôfago provido de formações espinhosas na metade anterior. ................................................... *Microscaphidium* Looss, 1900.
Diverticulos orais rudimenatres; esôfago inerme ............................... 9

9 — Corpo apresentando duas fileiras de formações vesiculosas nas margens ........... ....................................................... *Angiodictyum* Looss, 1902.
Corpo sem formações vesiculosas marginais ........................................ ........................... *Polyangium* Looss, 1902 (=*Nephrobius* Poche, 1925?)

A presente chave é uma modificação da apresentada por Price (1937) à qual acrescentamos *Neoctangium* gen. n. e *Denticauda* Fukui, 1929 n. comb.

## COMENTARIO

A nosso ver a espécie *Distomum quadrangulatum* descrita por Daday em 1907, não cabe no gênero *Parabaris*, onde foi incluida por *Travassos* (1922); sem dúvida deverá enquadrar-se num gênero muito próximo, entretanto, a presença de uma ventosa para-genital (ventosa genital?), a ausência de um bulbo esofagiano, o tipo de circunvoluções uterinas, a disseminação dos vitelinos em dois gru-

pos paralelos e distintos e o tipo da formação caudal, são caractéres que permitem distinguir a espécie de Daday da de Travassos (*Parabaris parabaris*) não só especifica mas genericamente.

A denominação dada por Fukui, *Denticauda*, poderá ser mantida desde que tomada noutro senso que não o original, isto é, transferindo o referido gênero da subfamilia *Dadayinae* FUKUI, 1929, para a familia *Microscaphidiidae* TRAVASSOS, 1922.

As razões apresentadas por Travassos (1934 pg. 125) quanto à substituição do nome *Angiodictyidae* Looss, 1902 pelo de *Microscaphidiidae* parecem muito acertadas, porisso preferimos esta ultima denominação.

## RESUMO

No presente trabalho descreve-se um novo trematóide do intestino de uma tartaruga marinha proveniente de Santos — Estado de São Paulo — que denomina-se *Neoctangium travassosi* gen. n., sp. n.

O novo gênero proposto, *Neoctangium*, distingue-se dos demais gêneros incluidos na familia *Microscaphidiidae* TRAVASSOS, 1922 pela presença de 4 pares de papilas caudais.

O gênero *Denticauda* FUKUI, 1929, proposto para *Distomum quadrangulatum* DADAY, 1907, e identificado por Travassos em 1932 a *Parabaris* TRAVASSOS, 1922, é revalidado neste trabalho, sendo transferido da subfamilia *Dadayinae* FUKUI, 1929 para a familia *Microscaphidiidae* TRAV. 1922 (= *Angiodictyidae* Looss, 1902).

## ABSTRACT

In this work a new trematode is described from the intestinal tract of a marine turtle captured in Santos — Estado de S. Paulo — Brazil, and for this parasite is proposed the name *Neoctangium travassosi*, n. gen. and n. sp.

The new genus proposed, *Neoctangium*, can be distinguished from the other genus of the family *Microscaphidiidae* TRAVASSOS, 1922 by the presence of 4 pairs of caudal papilae.

The genus *Denticauda* FUKUI, 1929, proposed for *Distomum quadrangulatum* DADAY, 1907, and identified by Travassos in 1932 to *Parabaris*, is revalided in this paper, being transfered from the subfamily *Dadayinae* FUKUI, 1929 to the family *Microscaphidiidae* TRAV. 1922 (= *Angiodictyidae* Looss, 1902).

## BIBLIOGRAFIA


*Braun, M.* — Trematoden der Chelonier — Mitt. Zool. Mus. Berlin **2**:1-58.1901.

*Broun, M.* — Fasciolíden der Vogel — Zool. Jahr. Syst. **16**.1902.

*Bravo, H. M.* — Revision de los generos *Diplodiscus* DIESING, 1836 y *Megalodiscus* CHANDLER, 1923 (*Trematoda: Poromphistomidae*) An. Inst. Biol. Mexico **12**(1-2):127 e 661.1941.

*Brumpt, E.* — Contribution à l'étude de l'evolution des Paramphistomides. *Poromphistomum cervi* e cercaire de *Plonorbis exustus* Ann. Parasitologie Hum. Comp. **14**:541.1936.

*Caballero y C. E.* — *Zigocotyle lunatum* (DIESING, 1835) (*Trematoda: Paramphistomidae*) en el ganado vacuno de Mexico — An. Inst. Biol. Mexico **11**(1-2):209.1940.

*Caballero y C, E.* — Trematodos de las tortugas de Mexico — *Ibid.* pg. 559.1940.

*Caballero y C, E.* — Revision de las espécies que actualmente forman el genero *Heronimus* McCALLUM, 1902 (*Trematoda: Heronimidoe* WARD, 1917) — *Ibid* pg. 225.1940.

*Caballero y C. E. y Sokoloff, D.* — A new Trematode (*Schizamphistomoides tobascensis*, n. sp.) from the intestine o the fresch water turtle *Dermatemys mowii* GRAY — Trans. Amer. Micr. Soc. **54**: 135.1935.

*Cordero, E. y Volgelsang, E. G.* — Nuevos trematodos II. Cuatro "*Poromphistomidae*" de los quelonios sudamericanos — Rev. Med. Vet. y Parasit. (Caracas)2(1-2): 3.1940; Apud. Biol. Abstr. **16**(4): 11145.1942.

*Daday, E. von* — In Sudamerikanischen Fischen lebende Trematoden-Arten Zool. Jahr. Syst. **24**: 496.1907; Apud Travassos, L., Artigas, P. T. & Pereira, C — 1928).

*Dawes* — On a colection of *Poromphistomidoe* from Malaya, with revision of the genera *Paromphistomum* FISCHOEDER, 1901 and Gastrothylax POIRIER, 1883 — Parasitology **28**: 330.1936.

*Faust, E. C.* — Notes on helminths from Panama. I — *Toxorchis schistocotyle* (FISCH. 1901) the Panamerican Capibara, *Hydrochoerbus isthmius* GOLDMAN, 1912 — J. *Porasitology* **21**: 323.1935.

*Freitas, J. F. T. & Lent, H.* — Sobre alguns trematóides parasitos de *Chelone mydas* (L), principalmente *Poramphistomoideo* — Mem. Inst. Osw. Cruz **33**(1): 79.1938.

*Freitas, J F. T. & Lent, H.* — A proposito de "*Holltremo avitellina*" LENT & FREITAS, 1939 — Rev. Bras. Biologia **2**(1): 115.1942.

*Fukui, T.* — Studies on Japanese Amphistomatous parasites, with revision of the grup — Jap. J. Zool. **2**(3): 219.1929.

*Goto, S. & Ozaky, Y.* — Brief notes on new trematodes II. — Jap. J. Zool. **2**(3): 369.1929.

*Hughes, R. C., Higginbothan, J. W. & Clary, J. W.* — The Trematodes of Reptiles, Part II — Host Catalogue — Proc. Okl. Acad. Sc. **21**: 35.1941.

*Kobayoshi, H.* — On some Digenetic Trematodes in Japan — Parasitology **12**:380.1920.

*Lent, H. & Freitas, J. F. T.* — *Trematodo: Poromphistomoidea* — Bol. Biol. (n s.) **4**:82.1939.

*Looss, A.* — Notizen zur Helminthologie Egyptens. IV. Ueber Trematoden aus Seeschildrkröen der egyptischen Küsten — Centralbl. Bakt. Parasitenk. I. Abt. **30**:618.1901.

*Looss, A.* — Ueber neue und bekannte Trematoden aus Seeschildkröten-Zool. Jahrb. **16**:411.1902

*Manter, A.* — A Collection of Trematodes from Florida Amphibia — Trans. Amer. Micr. Soc. **57**:26.1938.

*Nicoll, W.* — A reference List of the Trematode Parasites of British Amphibia — Parasitology **18**:14.1926.

*Poche, F.* — Das System der Platodaria — Arch. f. Nat. Abt. **91**:1-458.1925.

*Price, E. W.* — The Trematode Parasites of Marine Mammals. — Proc. U. S. Nat. Mus. **81**:1-68.1932.

*Price, H. W.* — Three New Genera and Species of Trematodes from Cold-Blood Vertebrates — Skrjabin Jub. Vol. pg. 483.1937.

*Southwell, T. & Kirshner, A.* — A description of a New Species of Amphistome *Chiorchis purvisi*, with notes on the Classification of the genera with the group — — Ann. Trop. Med. & Parasit. **31**(2):215.1937.

*Stunkard, H. W.* — The Present Status of the Amphistome Problem — Parasitology **17**(1): 137.1925.

*Travassos, L.* — Contribuição para a sistematica dos "*Paramphistomoidea*" com uma nota sobre o emprego do fenol em helmintologia — Brasil-Medico **35**:357.1921.

*Travassos, L.* — Informações sobre a fauna helmintologica de Mato Grosso — Folha Medica **3**:187.1922.

*Travassos, L.* — Notas helmintologicas — Bol. Biol. **19**:149.1932.

*Travassos, L.* — Sinopse dos *Paramphistomoides* — Mem. Inst. Osw. Cruz **29**:19.1934.

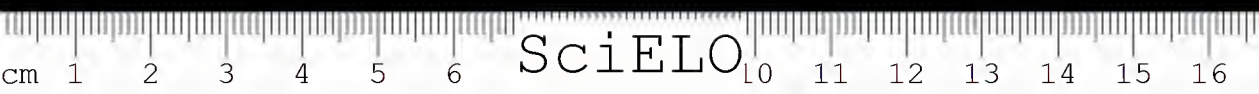
*Travassos, L., Artigas, P. de T. & Pereira, C.* — Fauna helmintologica dos peixes de agua doce do Brasil — Arch. Inst. Biol. **1**:1-68.1928.

*Vaz, Z.* — Contribuição ao conhecimento dos Trematoides de Peixes Fluviais do Brasil. Tése. 47 pp. 20 figs. São Paulo. 1932.

*Willey, C. H.* — Studies on the Morphology and Systematic Position of the Trematode *Protocladorchis pangasi*, n. gen. (*Cladorchis pangasi* MACALLUM, 1905) — Trans. Amer. Micr. Soc. **54**:8.1935.

## *Abreviações das figuras*

Bf — bulbo esofagiano; C — ceco; Cl — canais linfáticos; Cld — canais linfáticos dorsais; Clv — canais linfáticos ventrais; GM — Glândula de Mehlis; Ov — ovário; Pcm — papila caudal mediana; Pdc — papila dorso-caudal; Ta — testículo anterior; Tp — testiculo posterior; Ut — útero; Vex — vesicula excretora; Vit — vitelinos; Vo — ventosa oral; Vs — vesicula seminal.

(Trabalho de colaboração dos Laboratorios de Parasitologia do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de S. Paulo. Entregue para publicação em 1.º-6-43 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

595.122

# ALGUMAS NOTAS SÔBRE O GÊNERO *OPISTHOGONIMUS* LÜHE, 1900. DESCRIÇÃO DE *OPISTHOGONIMUS SERPENTIS*, SP. N., TREMATOIDE DE OFIDEO.

POR

PAULO de T. ARTIGAS; JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO

No Vol. XVI, de 1942, das Memorias do Instituto Butantan, tivemos oportunidade de publicar um trabalho no qual foi descrito, com o nome de *Westella sulina*, um novo trematoide de ofídio, encontrado na cavidade bucal e no esôfago de *Philodryas schottii* (SCHLEGEL). Naquele trabalho julgavamos acertado criar o novo gênero *Westella*, pois que os dados bibliográficos consultados na ocasião nos permitiam chegar a tal conclusão. Na época em que foi elaborada a referida publicação, não tivemos oportunidade de consultar um trabalho de West, publicado em 1896 no Journal of the Linnean Society e as conclusões a que chegamos foram orientadas sobretudo pelos dados coligidos em publicações de C. Pereira (1929) e de Lühe (1900). Agora, graças à gentileza do prof. Lauro Travassos, nos foi proporcionado o ensejo de ler o trabalho de West e, como resultado dessa leitura, saem estas notas, cuja finalidade é deixar bem estabelecida a situação sistemática das espécies de trematoides incluidas no gênero *Opisthogonimus* LÜHE, 1900.

Em 1896, West publica um trabalho em que descreve *Distomum philodryadum*. A descrição oferecida por West é deficiente sob varios aspetos e, sobretudo, por não fazer referência aos vitelinos; nesse trabalho se encontra uma figura do trematoide descrito, cujo exame permite notar à primeira vista, a situação cecal e extra-cecal das massas vitelinicas, particularidade que não é observada nos trematoides atualmente incluidos no gênero *Opisthogonimus*. Todavia a existencia de figuras de cortes secionais permitiu aos pesquisadores posteriores uma orientação morfologica segura para a situação do trematoide mal descrito e mal representado no desenho esquemático.

Em 1900, LÜHE, sem ter conhecimento da publicação de West, descreve *Opisthogonimus lecithonotus*, parasito tambem de *Philodryas schottii* (1.ª nota); logo a seguir (1900), o mesmo Lühe, sendo informado da existência do trabalho de

West, identifica a espécie *Opisthogonimus lecithonotus* a *Distomum philodryadum* (2.ª nota). Em nenhum dos dois trabalhos de Lühe se encontram figuras.

Em presença dêstes fatos nada ha pois de extraordinario que todos os autores, até a presente data, orientassem as suas pesquisas pelo ponto de vista de Lühe, reconhecendo como idênticas as espécies *Opisthogonimus lecithonotus* e *Distomum philodryadum*. Esta situação foi aceita por Pratt (1902), Nicoll (1914), Pereira (1928, 1929), notando-se que, em 1914, Nicoll, quando descreve *Opisthogenes interrogativus* foi levado a crear um novo gênero talvez pela observação da figura mal feita da publicação de West, reproduzida com os defeitos por Pratt (1902), cujo trabalho foi uma das fontes de consulta de Nicoll, o que aliás já salientou Travassos (1924). Quando descrevemos *Westella sulina*, o nosso ponto de vista foi sobretudo orientado pelo trabalho de Pereira (1929), que fez a revisão do gênero *Opisthogonimus*, apresentando ótimas figuras, e que tinha consultado o trabalho básico de West. Aparentemente, estavamos pois em muito bom alicerce quando erigimos o novo gênero *Westella;* penitenciamo-nos da nossa falha e tratamos de pôr nos devidos termos uma situação que certamente está errada e que passamos a discutir.

A nosso vêr, não é possivel continuar considerando sinônimas as espécies *Opisthogonimus lecithonotus* e *Distomum philodryadum*, pois que os dados das publicações de West e de Lühe são imperfeitos para tal julgamento. Todavia, Pereira, ao fazer a revisão do gênero *Opisthogonimus*, em 1929, publica uma bem feita figura e redescreve a especie *Opisthogonimus philodryadum* (West, 1896), aceitando o gênero de Lühe e a espécie de West. É fóra de discussão, porém, que a figura de Pereira e tambem a sua descrição não se adatam às figuras e descrição de West. Como já dissemos, os cortes secionais publicados no trabalho dêste autor permitem reconhecer a sua espécie como um *Opisthogonimus*, mas a figura da situação do poro genital e da bolsa do cirro é totalmente diversa da de *Opisthogonimus philodryadum* representada por Pereira. Pereira, ao fazer a revisão do gênero *Opisthogonimus* encontrou uma situação confusa e procurou solucionar o caso descrevendo a espécie por êle encontrada em *Philodryas schottii* e outros hospedeiros como sendo a de West, sem levar em conta determinadas caracteristicas morfológicas bem representadas por West e que não podem deixar de ser consideradas.

De outro lado, Lühe em 1900, ao identificar a sua espécie *Opisthogonimus lecithonotus* a *Distomum philodryadum* a isso foi levado pela origem do seu material e a do material de West, isto é, a mesma espécie de serpente sul-americana e pela semelhança morfológica dos trematoides. Nessa época era razoavel a suposição de identidade do material, pois que somente mais tarde é que se veiu a saber que numa mesma espécie de ofídio podem ser encontradas espécies diferen-

tes de *Opisthogonimus* e que estas parasitam indiferentemente varias espécies de serpentes.

FIG. 1

*Opisthogonimus* (W.) *serpentis*, sp. n. Vista total.

A situação criada pela maneira de agir de Lühe não teria outras consequencias si Pereira não tivesse feito a redescrição de *Opisthogonimus philodryadum* e publicado uma figura, aliás muito bem feita, mas que não se adata às figuras do trabalho de West, como já foi dito. Quem observar as figuras do trabalho de West, poderá verificar que, nos desenhos apresentados, a situação do poro genital está numa situação nitidamente para-mediana e na altura da zona ovariana, precisamente como acontece em *Westella sulina*. Ora, a figura de Pereira (Fig. 9 do trabalho) não reproduz o aspecto da figura de West que, neste pormenor,

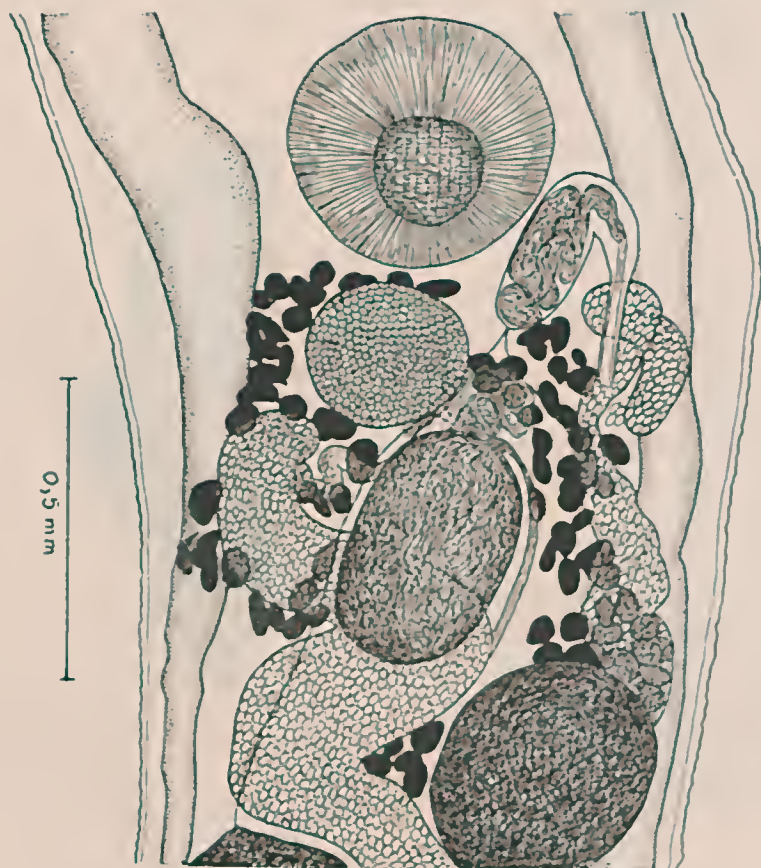



Fig. 2

*Opisthogonimus (W.) serpentis*, sp. n. Ampliação da região média da Fig. 1.

deve estar exata, pois não é de crer a existencia de engano numa verificação tão simples como a localização do poro genital; Pereira, na sua figura, coloca o poro genital no campo acetabular e na zona do testiculo anterior. Diante disso não se pode concluir de outra forma sinão que a espécie de West não é a mesma descri-

ta por Pereira. No material que tivemos em mão e que se acha depositado na coleção helmintologica do Instituto Butantan encontramos lotes de exemplares que se decalcam com precisão no desenho de Pereira, razão por que temos que aceitar a perfeição no desenho por ele apresentado.

Em face do que está acima referido, ficamos nesta situação dúbia: 1.º a descrição e as figuras da espécie de West, imperfeitas, mas com caracteres suficien-

FIG. 3

*Opisthogonimus* (W.) *serpentis*, sp. n. Exemplar de meio perfil (região equatorial) mostrando a disposição dorsal das gonadas e da bolsa do cirro.

tes para reconhecer um trematoide do gênero *Opisthogonimus;* 2.º a descrição e figura de Pereira perfeitas, mas que diferem do que estabeleceu West, devendo ser atribuidas a uma espécie diferente e não à de West.

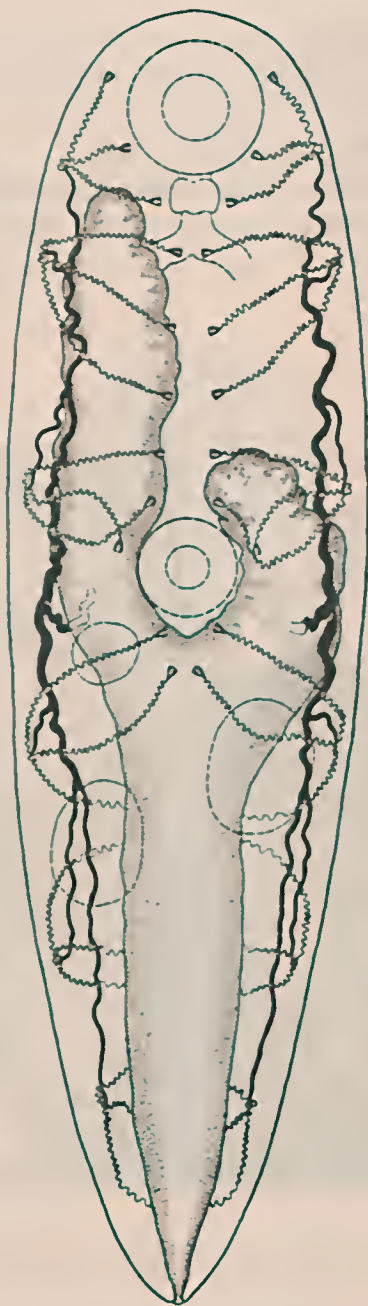



FIG. 4

*Opisthogonimus* (*W.*) *serpentis*, sp. n.
Pormenor do aparelho excretor.

O resultado desta situação confusa é o se atribuir ao trematoide *Opisthogonimus philodryadum*, no sentido de Pereira, as caracteristicas do *Distomum philodryadum*, *sensu* West, o que é inaceitavel.

Por força se torna indispensavel pôr um paradeiro a esta situação que já determinou enganos como o de Nicoll em 1914 e o nosso em 1942. Evidentemente Pereira não podia identificar o trematoide por êle descrito como *Opisthogonimus philodryadum* à espécie *Distomum philodryadum* de West; de outro lado a descrição e as figuras de Pereira estão de acôrdo com a imperfeita diagnose de Lühe, que refere o poro genital localizado atrás do acetábulo, na zona testicular.

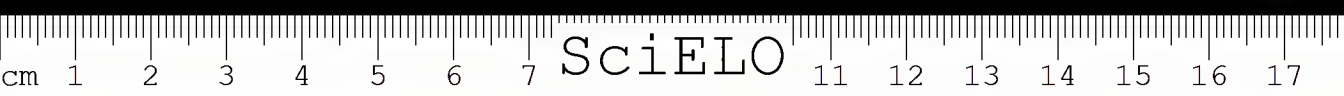
A nosso vêr a situação a ser adotada nesta complicada questão é a seguinte:

1.° considerar a espécie de Lühe, *Opisthogonimus lecithonotus* como bôa e, desde que as suas caracteristicas estão mal descritas no trabalho original, aceitar como diagnose bôa a que Pereira oferece para *Opisthogonimus philodryadum*; acentuamos que a descrição de Lühe está concorde com a de Pereira e que se decalca na figura dêste autor.

2.° considerar a espécie de West diferente da de Lühe e tendo como caracteristica diferencial principal a situação para-mediana do poro genital e a sua localização alta, na zona ovariana.

A situação lateral e alta do poro genital foi por nós considerada como elemento importante de diferenciação, pois em todos os lotes de *Opisthogonimus* examinados (*O. megabothrium*, *O. interrogativus*, *etc.*) a situação do poro genital foi sempre no campo acetabular e na zona testicular. Em todos os exemplares de *Westella sulina* o poro genital fica fóra da linha mediana e na zona ovariana; o valor dêste pormenor anatômico viemos a ter depois de encontrar a nova espécie descrita neste trabalho com o nome de *Opisthogonimus serpentis*, que apresenta o poro genital nitidamente para-mediano em 100% dos exemplares examinados e de situação alta, longe do testiculo anterior.

A colocação de espécies e gêneros novos obedece, sem dúvida, a um conceito geral que é, em tése, bem interpretado por todos os sistematistas, qual seja o das caracteristicas morfológicas, além de caracteristicas biológicas. Todavia, o ponto de vista individual é sempre variavel e não ha uma medida exata para se definir com perfeição os limites de espécies e de gêneros. A nosso ver, êste caracteristico da situação para-mediana e alta do poro genital é um elemento que justifica plenamente a distinção de todas as espécies de *Opisthogonimus* em dois tipos morfológicos, com o valor de gênero ou de sub-gênero.

Até que outras espécies venham a ser descritas, será mais oportuno considerar os dois tipos como sub-gêneros e, neste caso, o gênero *Westella*, por nós criado passará a ser considerado com o valor de subgênero. De acôrdo com o que foi

referido o gênero *Opisthogonimus* LÜHE, será constituido por dois subgêneros, *Opisthogonimus* e *Westella* e conterá, até a presente data, as seguintes espécies:

a) Subgênero *Opisthogonimus*:

*O.* (*O.*) *lecithonotus* LÜHE, 1900 —espécie tipo.
*O.* (*O.*) *megabothrium* PEREIRA, 1928
*O.* (*O.*) *interrogativus* (NICOLL, 1914)
*O.* (*O.*) *pereirai* RUIZ & LEÃO, 1942
*O.* (*O.*) *artigasi* RUIZ & LEÃO, 1942
*O.* (*O.*) *fonsecai* RUIZ & LEÃO, 1942

b) Subgênero *Westella*:

*O.* (*W.*) *philodryadum* WEST, 1896
*O.* (*W.*) *sulina*, ARTIGAS RUIZ & LEÃO, 1942
*O.* (*W.*) *serpentis*, n. sp.

A espécie *Opisthogonimus* (*O.*) *afranioi* é o elemento intermediario entre os dois subgêneros, por ter o poro genital relativamente alto, porém tendendo francamente para as espécies do subgênero *Opisthogonimus*.

*Opisthogonimus* (*Westella*) *serpentis*, sp. n.

Diagnose especifica:

*Westella* — Corpo alongado e com extremidades arredondadas, sendo a posterior mais afilada, medindo 4,6 a 6,7 mm de comprimento por uma largura máxima que varia entre 0,93 e 1,20 mm ao nivel do acetábulo. Cutícula revestida por pequenos espinhos dirigidos no sentido ântero-posterior, diminuindo de intensidade na metade posterior do corpo. Ventosa oral subterminal, voltada para a face ventral, circular, com um diametro transversal compreendido entre 0,494 a 0,636 mm. Ventosa ventral pre-equatorial, circular, menor do que a ventosa oral, medindo 0,395 a 0,452 mm de diâmetro transversal. A distância entre as ventosas é de 1,060 a 2,262 mm. Pre-faringe quasi nulo. Faringe musculoso, de forma arredondada, com o diâmetro transversal maior do que o longitudinal, mede cerca de 0,130 por 0,225 mm. Esôfago praticamente inexistente. Cecos se estendendo até pouco alem da zona testicular. Testículos arredondados ou elipsóides, raras vezes muito ligeiramente chanfrados, post-equatoriais, com campos e zonas muito proximos ou mesmo parcialmente coincidentes, intra-cecais e cecais. Testiculo anterior com campo coincidindo com o poro genital e medindo 0,339 a 0,494 mm no sentido do comprimento por 0,296

a 0,295 mm no sentido da largura. Testiculo posterior com campo coincidente com o do ovário; é ligeiramente maior do que o anterior e mede 0,367 a 0,537 mm no sentido do comprimento por 0,353 a 0,438 mm no sentido da largura. Vasos eferentes unindo-se na base da bolsa do cirro. Esta é um orgão tubular cuja metade basal se apresenta globosa e a distal menos calibrosa, dirigida no sentido dorso-ventral, contem a bolsa do cirro uma vesícula seminal tubular grandemente enovelada que ocupa toda a porção dilatada da base; segue-lhe um curto duto ejaculador, que termina num cirro tambem tubular e inerme; mede cerca de 0,540 mm de comprimento por 0,113 de largura. O poro genital tem uma localização ventral, ao lado da linha mediana, post-acetabular, e ao nivel da zona ovariana. Ovário arredondado, imediatamente atrás da ventosa e deslocado ligeiramente para o lado; tem um diametro transversal variando entre 0,212 e 0,395 mm. Receptáculo seminal geralmente muito desenvolvido, com frequência elipsoide, às vezes mais alongado, post-ovariano; seu comprimento é sempre maior do que o diametro, mede 0,339 a 0,452 mm de comprimento por 0,115 a 0,268 mm de largura. Glândula de Mehlis para-ovariana. Canal de Laurer presente. Útero constituido por numerosas circumvoluções que se estendem da zona ovariana até a extremidade posterior do corpo, ocupando a sua parte ventral; ramos ascedente e descendente sub-iguais e se disseminando nas areas intra-cecal, cecal e extra-cecal. A vagina é um orgão dificil de observar devido ao grande numero de ovos ai localizados. A sua observação em material vivo não oferece, porém, dificuldades e se apresenta com uma parede muito musculosa e forma recurvada para dentro, situa-se para o lado externo da bolsa do cirro; mede cêrca de 0,225 mm de comprimento por uma largura proxima de 0,098 mm. As aberturas feminina e masculina são contiguas. Ovos numerosos, de casca delgada, operculados, medindo 0,025 a 0,030 mm de comprimento por 0,014 a 0,016 mm de largura. Vitelinos formados por numerosos ácinos cujo diametro varia entre 0,028 a 0,141 mm (0,60 mm em média) e que se reunem em cachos pouco compactos, situados na face dorsal; se espalham na área intra-cecal e cecal desde o nivel inferior da ventosa ventral até uma distância que varia entre 0,282 a 0,636 do nivel inferior do último testiculo.

## APARELHO EXCRETOR

Os pormenores do aparelho excretor foram estudados em material vivo proveniente de vários lotes. O poro excretor está localizado na extremidade posterior do corpo, ao nivel da linha mediana. Vesícula excretora calibrosa, passivel de grandes dilatações. A bifurcação tem logar imediatamente acima do nivel testicular. Ramos pares muito grossos e dilatáveis, atingindo, em certos movimentos, a região faringeana. Os canais coletores secundarios anteriores, situados um em cada margem lateral do corpo, na vizinhança da linha que di-

vide os terços medio e anterior, emitem uma ramificação terciária do lado externo que se dirige para baixo quasi alcançando o limite superior da zona acetabular; nesse ponto partem três pequenos tubos capilares que se dirigem para a linha mediana, terminando em células vibráteis. A segunda ramificação terciária dá-se ao nivel da bifurcação cecal; formam-se dois ramos terciários: um externo e outro interno; o externo dirige-se para cima e a curta distância se trifurca; seus três capilares dirigem-se igualmente para a linha mediana e conduzem às células vibráteis; o ramo interno é mais longo e atinge o nivel inferior da zona da ventosa oral onde se originam tres capilares terminando em células vibráteis que circundam a ventosa oral. O trajeto dos troncos coletores secundários posteriores é mais dificil de observar em seus pormenores devido à enorme massa de ovos que mascaram a região post-acetabular. A primeira ramificação terciária dá-se no limite superior da zona testicular; o fino tronco que dai se origina é curto e externo e dirige-se para baixo; de sua extremidade partem tres capilares que se voltam para a linha mediana; apenas em dois dêles foram observadas as terminações e consequente localização das células vibráteis. Ao nivel do meio da zona testicular o ramo secundário subdivide-se em dois ramos terciários longos, paralelos, que se continuam para baixo; o externo é mais curto e se trifurca logo após a zona testicular; os tres capilares restantes dirigem-se para a linha mediana; o interno segue o percurso até quasi a extremidade posterior do corpo; a sua subdivisão não foi observada. Na Fig. 4 damos um esquema do aparelho excretor, no qual são representadas por linhas pontilhadas as trajetórias não observadas. Do que acabamos de expôr conclue-se que a fórmula representativa do sistema celular vibratil do aparelho excretor do *Opisthogonimus (Westella) serpentis*, n. sp., é do tipo 2 (3+3+3)+(3+3+3).

Hospedeiro tipo: *Tomodon dorsatus* DM & BIBR. — Nomes vulgares: "Corre campo", "Boipemi".

Localidade tipo: Araucaria — Paraná — Brasil.

Localização: Cavidade bucal e esôfago.

A descrição e medidas apresentadas para a presente espécie foram baseadas em dez exemplares comprimidos e montados, pertencentes à coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan, onde se acham arquivados sob o No. 3.681.

No mesmo hospedador foi retirado um exemplar de *Opisthogonimus (O.) artigasi* Ruiz & Leão, 1942, fichado sob o No. 5.551.

A presente espécie nova tem sido encontrada com relativa frequência em diversas espécies de cobras oriundas dos Estados de São Paulo e Paraná, não

sendo, porém, o parasitismo muito intenso. O quadro seguinte dá indicações dos diversos lotes que tivemos oportunidade de encontrar.

QUADRO 1

| Lote | Hospedeiro | Localização | Procedência | | No. de exemplar | Data |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Localidade | Estado | | |
| 5567 | *Liophis miliaris* (L.) ..... | Esôfago | Rio Grande | São Paulo | 12 | 2/12/42 |
| 5568 | *Liophis miliaris* (L.) ..... | Boca e esôfago | Arapongas | Paraná | 2 | 27/11/42 |
| 5563 | *Liophis miliaris* (L.) ..... | Boca e esôfago | Serpentario de Butantan (1) | ? | 12 | 18/11/42 |
| 3681 | *Tomodon dorsatus* D. & B. | Boca e esôfago | Araucaria | Paraná | 10 | 17/ 7/40 |
| 3690 | *Tomodon dorsatus* D. & B. | Esôfago | Ponta Grossa | Paraná | 1 | 30/ 9/40 |
| 5516 | *Tomodon dorsatus* D. & B. | Boca e esôfago | Araucaria | Paraná | 3 | 17/ 7/40 |
| 5176 | *Dryophylax pallidus* (L.) .. | Boca | Araucaria | Paraná | 4 | 23/ 9/40 |
| 5199 | *Dryophylax pallidus* (L.) .. | Boca | Araucaria | Paraná | 1 | 23/ 9/40 |
| 5550 | *Dryophylax pallidus* (L.) .. | Boca | Serpentario de Butantan (1) | ? | 6 | 13/ 9/42 |
| 5560 | *Xenodon merremii* (WAGLER) ............... | Boca | Serpentario de Butantan (1) | ? | 1 | 26/ 8/41 |
| 5557 | *Xenodon merremii* (WAGLER) ............... | Esôfago | Serpentario de Butantan (1) | ? | 1 | 25/10/42 |
| 5498 | *Xenodon merremii* (WAGLER) ............... | Boca e esôfago | Serpentario de Butantan (1) | ? | 5 | 18/ 9/42 |
| 5167 | *Liophis miliaris* (L.) ..... | Boca | Dourado | São Paulo | 2 | 25/11/40 |
| 3696 | *Leimadophis poecilogyrus* (WIED) ............. | Boca | Cornelio Procopio | Paraná | 2 | 25/ 6/40 |

(1) Procedência ignorada.

## RESUMO

Neste trabalho faz-se o estudo critico das publicações dos autores que trataram das espécies do gênero *Opisthogonimus* LÜHE, 1900.

Depois de fundamentado um ponto de vista, em relação aos trabalhos básicos de West e de Lühe, em que se afirma a independência específica do *Distomum philodryadum* WEST, 1896 e *Opisthogonimus lecithonotus* LÜHE, 1900, chama-se a atenção para a situação dúbia criada após a revisão do gênero *Opisthogonimus* feita por Pereira em 1929.

Em resultado do estudo critico assim feito, as conclusões aceitas são:

1.º — O espécie *Opisthogonimus lecithonotus* LÜHE, 1900 é boa e diferente da de West e a sua descrição se adata à figura publicada por Pereira para *Opisthogonimus philodryadum*.

2.º — O gênero *Opisthogonimus* é desdobrado em dois subgeneros: *Opisthogonimus*, n. subgen. e *Westella* ARTIGAS, RUIZ & LEÃO, 1942 (apresentado anteriormente como gênero).

3.º — O subgenero *Westella* deve compreender as espécies: *Distomum philodryadum* = *Opisthogonimus* (*Westella*) *philodryadum* (WEST, 1896), *Opisthogonimus* (*Westella*) *sulina* ARTIGAS, RUIZ & LEÃO, 1942 e *Opisthogonimus*

*(Westella) serpentis*, sp. n. O gênero *Westella* ARTIGAS, RUIZ & LEÃO, 1942, passa, pois, à categoria de subgênero.

4.º — O subgênero *Opisthogonimus* deve compreender as espécies:
*Opisthogonimus (O.) lecithonotus* LÜHE, 1900 — espécie tipo.
*Opisthogonimus (O.) megabothrium* PEREIRA, 1928
*Opisthogonimus (O.) afranioi* PEREIRA, 1929
*Opisthogonimus (O.) interrogativus* (NICOLL, 1914)
*Opisthogonimus (O.) artigasi* RUIZ & LEÃO, 1942
*Opisthogonimus (O.) fonsecai* RUIZ & LEÃO, 1942
*Opisthogonimus (O.) pereirai* RUIZ & LEÃO, 1942

5.º — Uma nova espécie *Opisthogonimus (Westella) serpentis* é descrita.

## ABSTRACT

This paper constitutes a critical study of works on species of the genus *Opisthogonimus* LÜHNE, 1900.

After establishing a point of view concerning the fundamental works of West and LÜHE, in wich the specific independence between *Distomum philodryadum* and *Opisthogonimus lecithonotus* is stated, attention is furtherly called upon the doubtful position originated by the work of Pereira (1929) when reviewing the genus *Opisthogonimus*.

As a result from this critical study, the following conclusions were drawn:

1.º — *Opisthogonimus lecithonotus* LÜHE, 1900, is a valid species and differs from the species of West (*Distomum philodryadum*), its description agreeing with the figure which Pereira presents for *Opisthogonimus philodryadum*.

2.º — The genus *Opisthogonimus* is subdivided in two subgenera — *Opisthogonimus*, n. subgen., and *Westella* ARTIGAS, RUIZ & LEÃO, 1942.

3.º — In the subgenus *Westella* the following species are included:
*Opisthogonimus (Westella) philodryadum* (WEST, 1896)
*Opisthogonimus (Westella) sulina* ARTIGAS, RUIZ & LEÃO, 1942
*Opisthogonimus (Westella) serpentis*, n. sp., and in the subgenus *Opisthogonimus* are included:
*Opisthogonimus (O.) lecithonotus* LÜHE, 1900
*Opisthogonimus (O.) megabothrium* PEREIRA, 1928
*Opisthogonimus (O.) afranioi* PEREIRA, 1929
*Opisthogonimus (O.) interrogativus* (NICOLL, 1914)

*Opisthogonimus* (*O.*) *artigasi* RUIZ & LEÃO, 1942
*Opisthogonimus* (*O.*) *fonsecai* RUIZ & LEÃO, 1942
*Opisthogonimus* (*O.*) *pereirai* RUIZ & LEÃO, 1942

The genus *Westella* ARTIGAS, RUIZ & LEÃO, 1942, is thus considered as subgenus of *Opisthogonimus*.

4.° — A new species, *Opisthogonimus* (*Westella*) *serpentis*, n. sp., found in the mouth cavity and oesophagus of *Tomodon dorsatus* DM & BIBR. is described.

## BIBLIOGRAFIA

*Artigas, P. de Toledo; Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Trematoide de Ofideos. *Liophistrema pulmonalis*, n. gen., n. sp., *Liophistreminae*, n. subfam. *Westella sulina*, n. gen., n. sp. (*Plagioirchiidae*) — Mem. Inst. Butantan **16**:157-165. 5 figs. 1942.

*Lühe, M.* — Ueber Einige Distomem aus Schlangen und Eidechsen — Centralbl. f. Bakt. Parasit. Infekt. **28**:555-558. 1900.

*Luhe, M.* — Ueber *Distomum philodryadum* WEST — Centralbl. f. Bakt. Parasit. Infekt. **28**:743. 1900

*Nicoll, W.* — Trematodes from animal dying in the Zoological Society's Garden during 1911-1912 — Proc. Zool. Soc. London **1**:142. 1914.

*Pereira, C.* — Fauna helminthologica dos Ophideos brasileiros (3.°) — Boletim Biologico **12**:50-52. 8 figs. 1928.

*Pereira, C.* — Revisão do genero *Opisthogonimus* — Rev. Museu Paulista **16**:1-17. 19 figs. 1929.

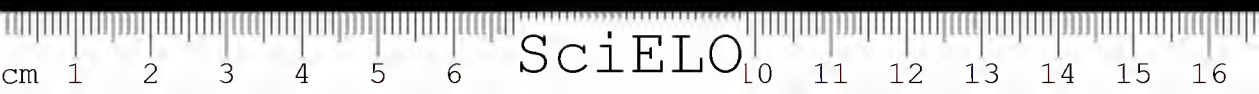
*Pratt, H. S.* — Sinopses of North American Invertebrates. XII. The Trematodes. — The American Naturalist **36**:953-979. 130 fis. 1902.

*Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas helmintológicas. I. Tres novas especies de *Opisthogonimus* parasitas de ofidios brasileiros. (*Trematoda*: *Plagiorchiidae*) — Mem. Int. Butantan **16**:171-176. 5 figs. 1942.

*Travassos, L.* — Fauna helminthologica de Matto Grosso (*Trematoda*, 1.ª Parte) — Mem. Inst. Oswaldo Cruz **21**(11):309-341. 44 figs. 1928.

*West, G. S.* — On a new species of *Distomum* (Communicated by Prof. G. B. Howes, Sec. Linn. Soc.) — J. Linnean Society **25**:322-324 10 figs. 1896.

(Trabalho de colaboração dos Laboratorios de Parasitologia do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de S. Paulo. Entregue para publicação em 1.°-6-43 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

591.19:612.492

# SUBSTÂNCIAS ESTROGÊNICAS NOS OVARIOS DAS CROTALIDEAS

POR

JOSÉ R. VALLE & LUIZ A. R. VALLE

A descoberta e a ulterior aplicação da prova de Allen e Doisy permitiram verificar a ampla distribuição das substâncias estrogênicas na natureza, tanto no reino animal, como nos reinos vegetal e mineral. Nos trabalhos, entre outros de Martins (1), Doisy (2), Deuloíeu (3) e Zondek (4), vêm referidos os dados mais importantes da literatura. Os estrógenos existem nos vertebrados e nos invertebrados, nos vegetais e até nos bitumes, mas os ovarios são a sua fonte natural, quando se considera aquelas substâncias como as responsáveis pelo aparecimento e pela manutenção dos caractéres sexuais secundarios femininos.

Corner (5) estudou o local de formação no organismo das substâncias estrogênicas; nas fêmeas não prenhes elas seriam elaboradas provavelmente pelas células da teca interna dos foliculos de qualquer tamanho.

Fraenkel e Martins (6) foram os primeiros a verificar a atividade estrogênica do liquido folicular dos ovarios de serpentes ovoviviparas, concluindo pela presença de 2 mil unidades camondongas por litro de material. Trabalhamos tambem com ovarios de Crotalideas (7) e encontramos, em experiências preliminares, 2900 unidades estrona por kg de foliculos e óvulos de diferentes dimensões e previamente desembaraçados dos demais tecidos.

Neste trabalho procuramos determinar a concentração de substâncias estrogênicas no ovario total de cascaveis e jararacas depois da separação, segundo a técnica de Gallagher *et al.* (8), das substâncias androgênicas acaso presentes.

a) *Material*

Foram autopsiadas 245 cascaveis e jararacas (*Crotalus terrificus terrificus* e *Bothrops*, sp.), fêmeas, mortas no serpentario deste Instituto e os ovarios, depois de triturados, colocados em alcool a 96%. Este total compreende 129 cascaveis, com peso corporal médio de 446 g, e 116 jararacas, com peso corporal médio de 279 gramas. O peso total dos ovarios coletados foi de 331.3 g, donde o valor médio de 1.3 g por serpente.

b) *Extração*

Retirados os ovarios, independentemente do desenvolvimento ovular, eles foram pesados, triturados e deixados à temperatura do laboratorio em 4 vezes o seu peso de alcool a 96%. Após a coleta glandular o alcool foi filtrado e o residuo reextraido em aparelho de refluxo com alccol quente durante 4 horas. O bagaço, pesando 34 g, foi desprezado e as porções alcoólicas, de cor amarelo-esverdeada e de cheiro caraterístico, foram reunidas, filtradas novamente e evaporadas. O residuo xaropcso obtido foi tratado, em funil de separação, com 4 x 50 $cm^3$ de eter isento de peróxidos e a fração insoluvel desprezada. A solução etérea evaporada forneceu 10 $cm^3$ de óleo vermelho carregado, redissolvidos em 70 $cm^3$ de eter e lavados com solução saturada de bicarbonato de sodio. Separada a fração etérea límpida e avermelhada, ela foi tratada com 5 x 40 $cm^3$ de NaOH a 10%. A porção eterea foi depois acidificada com ácido sulfúrico a 10%, lavada com agua distilada e evaporada. Obteve-se, assim cerca de 1 $cm^3$ de residuo oleoso. A porção alcalina separada foi por sua vez tambem acidificada e extraida com eter e este evaporado para a obtenção das substâncias estrogênicas, agora separadas dos andrógenos acaso existentes no extrato.

c) *Ensaio biológico*

O residuo da fração alcali-insoluvel, devendo conter os andrógenos, foi diluido em óleo de amendoim até 3.3 $cm^3$ e ensaiado num galo capão e em ratos castrados injetados com colchicina, conforme a técnica descrita quando estudámos as substâncias androgênicas nas gônadas das Crotalideas (9). Os resultados foram negativos na dose total de 1 $cm^3$, correspondente a 100 g de ovarios frescos.

Para verificação do teor estrogênico na fração alcali-soluvel seguimos a técnica de Bülbring e Burn (10) de pesada dos cornos uterinos de ratas castradas infantis.

Empregamos 20 ratas de um mês de idade, castradas e divididas em 5 lotes de 4 animais. O tratamento foi iniciado 48 horas depois da castração, uma injeção diária subcutânea de 0.25 $cm^3$ durante 4 dias, no total de 1 $cm^3$ da solução oleosa a ensaiar. Dois lotes serviram de testemunhas, um não tratado e outro injetado com óleo puro; outro lote foi injetado com solução conhecida de estrona cristalizada. Nos lotes tratados com o extrato a ensaiar as soluções correspondiam a 5 e 10 gramas de ovarios frescos por $cm^3$. Os resultados vêm sumariados no Quadro I.

Si referirmos o peso uterino médio seco por 100 g de peso corporal, teremos 12.9 e 12.2 mg respectivamente para os lotes testemunhas sem tratamento e injetado com óleo puro; 15.1 e 22.5 mg para os lotes tratados com o extrato ensaiado contendo respectivamente 5 e 10 g de glândulas frescas por $cm^3$ e,

finalmente, 16.0 mg para o lote que recebeu 1 γ de estrona cristalizada. Estes últimos valores permitem calcular a presença de substâncias estrogênicas nos ovarios das Crotalideas na concentração equivalente pelo menos a 160 γ de estrona por kg de material.

Quadro 1

| Lotes | N.º de animais | Peso corporal médio em g | Tratamento | Peso uterino médio em mg | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | fresco | seco | fresco % |
| A | 4 | 42.5 | Nihil | 19.8 | 5.5 | 12.9 |
| B | 4 | 47.2 | 4×0.25 cm³ de óleo puro | 28.8 | 5.8 | 12.2 |
| C | 4 | 45.0 | 4×0.25 cm³ de Ext. = 5 g | 25.8 | 6.8 | 15.1 |
| D | 4 | 43.5 | 4×0.25 cm³ de Ext. = 10 g | 30.5 | 9.8 | 22.5 |
| E | 4 | 55.0 | 4×0.25 cm³ de Ext. = 1 γ | 28.0 | 8.8 | 16.0 |

d) *Discussão*

São os seguintes os dados sobre a concentração de substâncias estrogênicas nos ovarios das Crotalideas: 2 mil unidades camondongas por litro de liquido folicular, segundo Fraenkel e Martins (6), 2900 unidades estrona por kg de foliculos e óvulos previamente dissecados, conforme as nossas experiencias preliminares (7) e 1600 unidades estrona por kg de ovario total de acordo com os dados que acabamos de relatar. Si compararmos estes valores com a concentração relativamente baixa de estrógenos nos ovarios dos mamiferos, vemos que os ovarios de ofidios constituem uma fonte apreciavel daquelas substâncias. A concentração referida foi inferior à encontrada, por exemplo, no liquido folicular humano ou na urina de mulher grávida, mas superior à extraida por Marlow e Richert (11) dos ovarios dos galinaceos.

Quanto à presença de andrógenos nos ovarios de cascaveis e jararacas, os ensaios foram negativos mesmo na dose da fração alcali-insoluvel correspondente a 100 g de glândulas frescas. A concentração de substâncias androgênicas nos testiculos das Crotalideas já foi referida em trabalhos anteriores (9, 12).

Complemento do presente trabalho seria, partindo de grande quantidade de material, a identificação quimica das substâncias responsáveis pelos efeitos assinalados.

## RESUMO

De um extrato alcoólico de ovarios de 245 serpentes ovoviviparas, dos gêneros *Crotalus* e *Bothrops*, foram obtidas duas frações: uma ensaiada em ratas infantis castradas, para determinação do teor em substâncias estrogênicas, conforme a técnica de Bülbring e Burn, e a outra em galo e ratos castrados para a presença de substâncias androgênicas. Os ensaios foram negativos para estas

últimas, mas mostraram para as primeiras a concentração média equivalente a 160 microgramas de estrona por kg de glândulas frescas.

Este teor de estrógenos nos ovarios dos ofidios é apreciavel quando comparado com os valores baixos, referidos pelos autores, para os ovarios dos mamíferos e das aves.

## ABSTRACT

Two fractions were obtained from an alcoholic extract of the ovaries of 245 ovoviviparous snakes belonging to the genera *Crotalus* and *Bothrops:* one was assayed in castrate female rats for the estrogenic potency according to the Bülbring and Burn's method, and the other was injected on capon and castrate rats for androgenic response. Only the estrogenic effect was observed averaging 160 γ of estrone per kg of freesh material.

This amount of estrogens in the female gonads of snakes in higher than the known values for the mammalian and avian ovaries.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Th.* — Glândulas sexuais e hypophyse anterior, p. 98-106, S. Paulo, Cia. Editora Nacional, 1936.
2. *Doisy, E. A.* — Biochemistry of the estrogenic compounds, *in* Sex and internal secretions, cap. XIII, p. 846-877, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1939.
3. *Deulofeu, V.* — Distribución de los estrógenos en la naturaleza — Ciencia (México) 2(8-9):289.1941.
4. *Zondek, B.* — Clinical and experimental investigations on the genital functions and their hormonal regulation, Cap. I — The occurrence of some estrogenic substances in nature, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1941.
5. *Corner, G. W.* — The sites of formation of estrogenic substances in the animal body — Phys. Reviews 18(2):154.1938.
6. *Fraenkel, L. & Martins, Th.* — Estudos sobre a fisiologia sexual das serpentes — Mem. Inst. Butantan 13:393.1939.
7. *Valle, J. R.* — Notas sobre a fisiologia endócrina dos ofidios — Arq. Cir. Clin. Exper. (S. Paulo) 6(5-6):1099.1942.
8. *Gallagher, T. F.; Peterson D. H.; Dorfman, R. I.; Kenyon, A. T. & Koch, F. C.* — The daily urinary exeretion of estrogenic and androgenic substanees by normal men and women — J. Clin. Invest. 16(5):695.1937.
9. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Substancias androgênicas nas gônadas de serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* — Mem. do Inst. Butantan 16:225.1942.
10. *Bülbring, E. & Burn, J. H.* — The estimation of oestrin and of male hormone in oily solution — J. Physiol. 85:320.1935.
11. *Marlow, H. W. & Richert, D.* — Estrogens of the fowl — Endocrinology 26:531.1940.
12. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Gonadal hormones in snakes — Science 97:400.1943.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 31 8 1943 e dado a publicidade em dezembro de 1943).

591.19:612.49

# TEOR EM ACETILCOLINA DA GENITALIA DE RATOS EM DIFERENTES CONDIÇÕES HORMONAIS

POR

JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Em trabalhos anteriores com Thales Martins (1, 2) ficou demonstrado que a excitabilidade e a contratilidade farmacológica "in vitro" de canais deferentes, vesiculas seminais e próstatas de ratos dependem das condições hormonais dos doadores. Nos ratos normais ou castrados tratados com testosterona, por exemplo, ao contrario do que se observa nos castrados ou tratados com estrogenos, a sensibilidade às drogas parasimpatomiméticas é bastante reduzida. Esta e outras alterações funcionais da musculatura lisa genital masculina já aparecem 30 horas depois da ablação das gônadas e se modificam 48 a 72 horas depois de uma única dose de propionato de testosterona ou de benzoato de estradiol (3). Procurando analisar estes fatos e considerando que tais alterações precedem as modificações morfológicas, mas podem depender ambas de fenómenos vasculares e metabólicos mais precoces, julgamos interessante procurar si os hormonios sexuais modificam o teor de acetilcolina daqueles orgãos, sobretudo depois dos dados de Reynolds (4), Reynolds e Foster (5) a propósito da concentração daquela substancia no útero de coelhas, gatas e ratas tratadas com estrogenos.

## MATERIAL E MÉTODO

Empregamos nestas experiencias um total de 295 ratos machos adultos de 130 a 250 g de peso, divididos em 53 grupos, 5 animais em média para cada grupo, e assim distribuidos: 50 normais, 30 castrados, 55 castrados injetados com oleo de sésamo, 62 castrados, injetados com propionato de testosterona na dose média de 5 mg, 89 castrados injetados com benzoato de estradiol na dose média de 05 mg e, finalmente, 9 castrados injetados com 0.5 e 1,0 mg de estiboestrol (*). De

---

(*) Agradecemos à Casa Schering o material hormonal (Testoviron, Progynon) e ao Prof. Jayme Pereira o estilboestrol, cedidos gentilmente para realização das nossas experiencias.

2 a 24, em média 6 dias, após a castração, os ratos eram sacrificados por decapitação de 2 a 10 em média 3 horas depois da injeção quando tratados. Foi obtido então o material para preparo de 116 extratos: 57 de genitália, isto é, canais deferentes, vesiculas seminais e próstatas, e 59 testemunhas assim discriminados: 17 de intestino delgado, 13 de baço, 10 de cremasteres, 4 de pele escrotal e 15 de bexiga, próstata ventral e penis. O método seguido foi o de Chang e Gaddum (6) e usado por um de nós ao estudar a sensibilidade da *Diplobdella brasiliensis* (Pinto, 1920) á acetilcolina e aos extratos de tecidos (7). A genitália acessória de cada grupo de rato e os orgãos controles eram pesados, picados num gral em ácido tricloracético a 10% na proporção de 2 cm³ por g de tecido. A papa permanecia á temperatura do Laboratório durante 2 horas, agitada neste intervalo varias vezes. Filtrava-se e reextraia-se o bagaço com solução de ácido tricloracético a 7%. O filtrado era lavado com éter em funil de separação tantas vezes quantas necessarias para remoção do ácido. Os extratos etéreos eram desprezados e o liquido obtido evaporado em banho-maria á temperatura inferior a 40°. O volume final era acertado com agua distilada de forma a 1 cm³ corresponder a 1 g de tecido, depois neutralizado e, finalmente, ensaiado. Na maioria dos casos porém, depois da evaporação o material ficava na geladeira, congelado, para diluição e ensaio no dia seguinte. A neutralização do extrato era sempre feita no momento do ensaio.

A prova biológica com os extratos foi realizada empregando-se o músculo dorsal eserinado da sanguesuga *Diplobdella brasiliensis*, mergulhado em 30 cm³ de Ringer e nas demais condições minuciosamente descritas em trabalho anterior (7). Examinamos alguns extratos usando o método da pressão arterial do gato e o do coração isolado da rã, *Leptodactylus ocellatus*. Em todos os casos a sensibilidade do *test* era comprovada pelo emprego de uma solução recente de cloridrato de acetilcolina "Roche" contendo 1 γ ou 0.1 γ por cm³. A dose de cada extrato para o músculo dorsal de sanguesuga foi habitualmente de 0.5 cm³, isto é, 0.5 g de tecido; quando era menor a sensibilidade da preparação, usavamos 1 cm³ do extrato.

Em algumas experiencias a resposta obtida foi controlada quer pela alcalinização, quer pela calcinação do extrato, afastando-se assim a possibilidade da reação depender de outras substancias diferentes da acetilcolina, principalmente o potassio. No Quadro I vêm os dados relativos a alguns dos grupos experimentais. Nos grupos 47 a 50 os ratos receberam alem do oleo de sésamo puro ou dos hormonios nele dissolvidos, uma injeção subcutanea de 0.5 cm³ de sulfato de eserina a 1 para 10 mil. Isto foi feito com o fito de se impedir a destruição da acetilcolina porventura liberada como consequencia do tratamento hormonal.

Quadro I

DADOS RELATIVOS A 30 DOS 105 EXTRATOS ENSAIADOS

| Data | Grupo | No. do extrato | No. de ratos | Peso corporal médio (g) | Tempo de castração | Tratamento | Horas decorridas | Órgãos extraídos | Peso (mg) | Volume ensaiado a reação obtida | Sensibilidade da sangoesuga à acetilcolina |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11.10.40 | 16 | 25 | 6 | | 24 dias | 0.5mg benz. estradiol | 4 | Genitália (*) ..... | 1740 | 0.5 cm³ ++ | 0.1 γ ++ |
| | 17 | 26 | 5 | | " | 1.0mg estilboestrol | " | Baço .............. | 3300 | 1.0 " 0 | |
| | | 27 | " | | " | " | | Genitália .......... | 850 | 0.5 " ++ | |
| | | 28 | 4 | | normais | — | — | Baço .............. | 2200 | 0.5 " 0 | |
| | 18 | 29 | " | | " | | | Genitália .......... | 3250 | 0.5 " + | |
| | | 30 | 6 | | 24 dias | 0.5mg benz. estradiol | 4 | Baço .............. | 3300 | 0.5 " 0 | |
| 9.1.40 | 27 | 51 | 5 | 175 | 2 dias | 0.5mg benz. estradiol | 2 | Genitália .......... | 2850 | 0.5 " ++ | 0.1 γ ++ |
| | | 52 | " | | | | | Cremasteres ....... | 1700 | 0.5 " 0 | |
| | | 53 | " | | | | | Prost., bexiga, penis | 2100 | 0.5 " ++ | |
| | 28 | 54 | 5 | 167 | " | 5.0mg prop. testost. | 2 | Genitália .......... | 2200 | 0.5 " ++ | |
| | | 55 | " | | | | | Cremasteres ....... | 1850 | 0.5 " + | |
| | | 56 | " | | | | | Prost., bexiga, penis | 1750 | 0.5 " ++ | |
| 14.1.41 | 29 | 57 | 5 | 155 | 3 dias | 0.5mg benz. estradiol | 4 | Genitália .......... | 2400 | 0.5 " ++ | 0.2 γ ++ |
| | 30 | 62 | " | 154 | " | 5.0mg prop. testost. | " | Genitália .......... | 3000 | 0.5 " ++ | |
| 31.3.41 | 33 | 75 | 5 | 230 | 2 dias | 5.0mg prop. testost. | 5 | Genitália .......... | 2800 | 1.0 " + | 0.1 γ + |
| | | 76 | " | | | | | Baço .............. | 4000 | 1.0 " 0 | |
| | 34 | 77 | 5 | 240 | " | 0.5mg benz. estradiol | " | Genitália .......... | 3150 | 1.0 " ++ | |
| | | 78 | " | | | | | Baço .............. | 3800 | 1.0 " 0 | |
| 24.4.41 | 35 | 79 | 5 | 200 | 54 horas | 5.0mg prop. testost. | 5 | Genitália .......... | 3200 | 0.5 " + | 0.1 γ + |
| | | 80 | " | | " | | " | Baço .............. | 5000 | 0.5 " 0 | |
| | 36 | 81 | 5 | 220 | " | 0.5 cm³ óleo sésamo | 5 | Genitália .......... | 4500 | 0.5 " ++ | |
| | | 82 | " | | | | " | Baço .............. | 4700 | 0.5 " 0 | |
| 6.5.41 | 39 | 87 | 5 | 220 | 53 horas | 0.5mg benz. estradiol | 5 | Intestino delgado .. | 3500 | 0.5 " ++ | 0.1 γ + |
| | | 88 | " | | | | | Genitália .......... | 2700 | 0.5 " ++ | |
| | 40 | 89 | 5 | 218 | " | 0.5 cm³ óleo sésamo | " | Intestino delgado .. | 5800 | 0.5 " ++ | |
| | | 90 | " | | | | | Genitália .......... | 3000 | 0.5 " ++ | |
| 16.5.41 | 43 | 95 | 4 | 206 | 6 dias | 5.0mg prop. testost. | 3 | Genitália .......... | 1900 | 0.5 " + | 0.1 γ + |
| | | 96 | " | | | | | Intestino delgado .. | 4400 | 0.5 " ++ | |
| | 44 | 97 | 5 | 181 | " | 0.5 cm³ óleo sésamo | " | Genitália .......... | 2400 | 0.5 " + | |
| | | 98 | " | | | | | Intestino delgado .. | 4700 | 0.5 " ++ | |

(*) Genitália = canais deferentes, vesículas seminais e glândulas coaguladoras.

## RESULTADOS E COMENTARIOS

Os resultados obtidos nos ensaios feitos com o emprego da musculatura dorsal de sanguesuga vêm resumidos no Quadro II. Dos 54 extratos de genitália examinados, somente 5 não deram efeito positivo. Si por um lado a amplitude de contração do musculo dorsal eserinado de sanguesuga e a proporção de respostas positivas foram maiores com os extratos de castrados e tratados do que de normais e castrados simples, a influencia do tratamento hormonal não ficou manifesta comparando-se a resposta aos extratos de tratados com oleo puro. Todos os 17 extratos controles de intestino foram positivos, em alguns casos a reação foi superior à registrada com os extratos de genitalia dos animais do mesmo grupo. Quanto aos extratos controles de baço, todos foram negativos; somente em 1 entre 10 extratos de cremasteres foi obtida uma resposta positiva. Nos 7 extratos de bexiga, próstata ventral e penis houve 3 respostas positivas e 4 negativas. Finalmente, os 4 extratos de pele escrotal foram todos inativos. Estes 3 últimos grupos de extratos de orgãos que dependem tambem das condições hormonais dos doadores, foram estudados para melhor análise dos resultados obtidos com os extratos de genitália. Si os hormonios sexuais liberassem acetilcolina ao nivel de toda a musculatura genital acessoria, a incidencia de resultados positivos deveria ser maior tambem nestes grupos. Como se póde vêr na fig. 1, a concentração de acetilcolina na genitália de ratos tratados com estradiol ou estiboestrol, foi praticamente a mesma apesar das doses diferentes dos estrogenos empregados; tambem nas Figs. 2 e 3 vê-se que não houve relação entre a intensidade das respostas e as condições hormonais dos doadores.

Embora tenha sido reduzido o número de provas realizadas empregando-se o método da pressão carotidiana de gatos, elas vieram corroborar os resultados acima descritos. Assim três extratos de genitália de ratos castrados e tratados com oleo puro, testosterona e estradiol e ainda eserinados, provocaram cada um efeito hipotensor de mesma intensidade, devido em grande parte, talvez, ao teor em histamina (fig 4). Nos ensaios efetuados pela técnica do coração isolado de rã observamos em certos casos diferenças de resposta conforme o extrato. Registrava-se, às vezes, aumento da amplitude sistólica invez de diminuição que seria o caso quer se tratasse da acetilcolina, quer do ion potassio. O reduzido número de provas, infelizmente, não permitiu maior esclarecimento deste fato.

Apesar das contraprovas pela alcalinazição ou calcinação dos extratos, não se pode afastar categoricamente a presença do potassio cuja concentração, nos diferentes casos fica ainda para ser determinada.

Finalmente, em experiencias preliminares, tambem comparativas não se verificou um aumento do teor em acetilcolina nos extratos de uteros de ratas adultas castradas sacrificadas 3 horas depois da injeção de 0.1 mg de benzoato de estra-

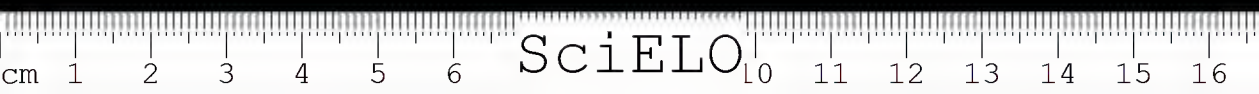



Fig. 1

Músculo dorsal eserinado de sanguesuga (preparação "in vitro"):

*a)* Contração em resposta à adição ao banho nutridor de 0.5 $cm^3$ do extrato n. 25, correspondente a 0.5 g de genitália de ratos tratados com estradiol.

*b)* Resultado da inativação alcalina do extrato n. 25.

*c)* Efeito negativo da adição ao banho de 1 $cm^3$ do extrato n. 26, correspondente a 1 g de baços de ratos tratados com estilboestrol.

*d)* Contração após a adição de 0.5 $cm^3$ = 0.5 g do extrato n. 27, obtido de genitalia de ratos tratados com estilboestrol.

Comparar as respostas positivas com as obtidas com os extratos de genitália das figuras seguintes, 2 e 3.

(Em todas as figuras cada intervalo na linha de tempo corresponde a 5 segundos).

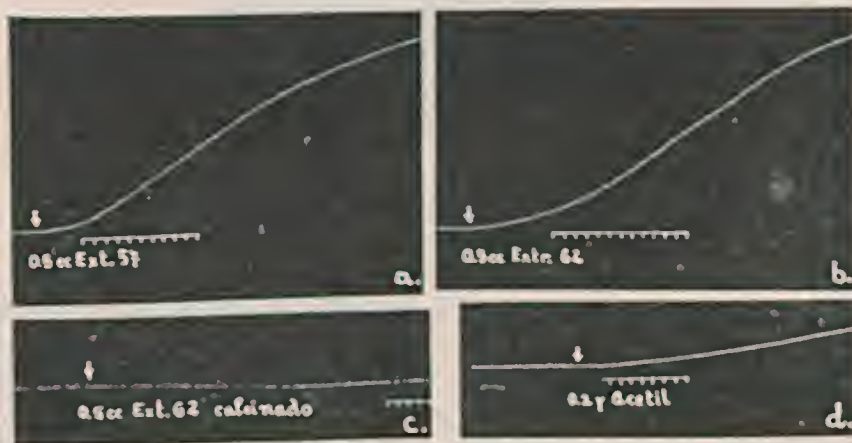



Fig. 2

Músculo dorsal eserinado de sanguesuga.

*a)* Contração ampla após adição ao banho de 0.5 $cm^3$ = 0.5 g de extrato de genitalia de ratos tratados com estradiol (Ext. n. 57).

*b)* Idem, idem, de ratos tratados com testosterona (Ext. n. 62).

*c)* Efeito da calcinação do extrato n. 62.

*d)* Sensibilidade da preparação a 0.2 γ de acetilcolina. Estes resultados mostram que a concentração de acetilcolina na genitália de ratos não parece depender do tratamento estrogénico.

diol. Este fato está de acordo com os dados de Holden (7), Reynolds e Foster (5) e indica que no rato, muito provavelmente, a acetilcolina não é a mediadora nos efeitos vasculares dos hormonios gonadais. Tambem outras pesquisas são necessarias para se decidir si, por exemplo, a histamina ou substancias afins desempenham no caso um papel importante.

Quadro II

DISTRIBUIÇÃO DOS EXTRATOS CONFORME A REAÇÃO DO MÚSCULO DORSAL ESERINADO DE SANGUESUGA

| GRUPOS | Reação | Extratos de genitália | Extratos de intestino delgado | Extratos de baço | Extratos de cremaster | Extratos de pele escrotal | Extratos diversos | TOTAL |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Normais | — | 1 | | 3 | | | | 4 |
| | + | 7 | | 0 | | | | 7 |
| | + + | 0 | | 0 | | | | 0 |
| Castrados | — | 2 | | 2 | | | | 4 |
| | + | 2 | | 0 | | | | 2 |
| | + + | 2 | | 0 | | | | 2 |
| Castrados + oleo de sésamo | — | 0 | 0 | 2 | 1 | | | 3 |
| | + | 6 | 4 | 0 | 0 | | | 10 |
| | + + | 4 | 3 | 0 | 0 | | | 7 |
| Castrados + propionato de testosterona | — | 0 | 0 | 2 | 4 | 2 | 2 | 10 |
| | + | 5 | 3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 13 |
| | + + | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| Castrados + benzoato de estradiol | — | 2 | 0 | 3 | 4 | 2 | 2 | 13 |
| | + | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | [illegible] | 14 |
| | + + | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| Castrados + estilboestrol | — | 0 | 0 | 1 | | | | 1 |
| | + | 0 | 1 | 0 | | | | 1 |
| | + + | 2 | 0 | 0 | | | | 2 |
| TOTAL | | 54 | 17 | 13 | 10 | 4 | 7 | 105 |

Em suma, o tratamento com testoterona, estradiol ou estilboestrol, nas condições experimentais descritas, até 10 horas depois da injeção não parece modificar o teor em acetilcolina da genitália masculina de ratos adultos castrados. É pouco provavel portanto, que no rato a acetilcolina, ou outra substancia deste tipo, esteja em jogo nos fenômenos mais precoces que se processam na intimidade da fibra lisa genital masculina e que dependiam dos hormonios gonadais.

## RESUMO

Procurando analisar as alterações funcionais da musculatura genital masculina, descritas em trabalhos anteriores, foram ensaiados 116 extratos de genitália, intestino delgado e baço de 295 ratos normais, castrados e injetados com subs-

tancias androgênicas e estrogênicas. O teor em acetilcolina destes extratos foi ensaiado em sanguesugas e, em alguns casos, tambem em gatos e rãs. Até 10 horas após a injeção os extratos de genitália e de intestino apresentaram quasi a mesma atividade independentemente das condições hormonais dos doadores.

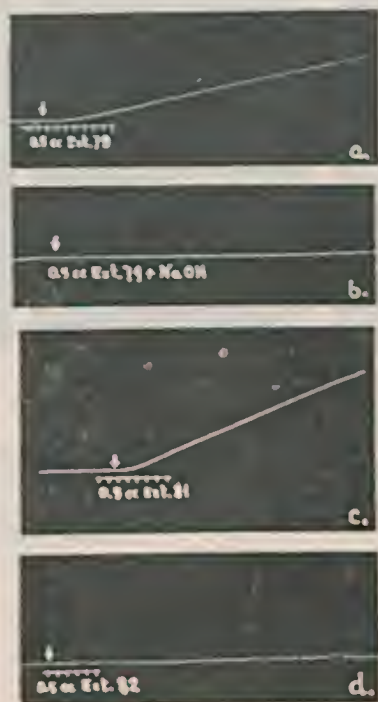



Fig. 3

Musculo dorsal estriado de sanguesuga

a) Efeito da adição de 0.5 cm³ = 0.5 g do extrato n. 79, obtido de genitália de ratos tratados com testosterona.

b) Resultado da alcalinização do extrato n. 79

c) Contração após a adição de 0.5 cm³ = 0.5 g do extrato n. 81, obtido de genitalia de ratos tratados com óleo puro.

d) Ausencia de contração após 0.5 cm³ = 0.5 g de extrato de baços de ratos tratados com óleo puro (Ext. n. 82).

Neste caso a concentração em acetilcolina do extrato de genitália de ratos tratados com óleo puro foi maior do que no de tratados com testosterona.

Os extratos de baço e de pele escrotal foram inativos assim como a maioria dos extratos de cremaster. É pouco provavel, por conseguinte, que no rato a acetilcolina, ou outra substancia proxima, esteja em jogo nos fenômenos mais precoces que ocorrem na intimidade da fibra lisa da genitália acessória masculina e que são dependentes das condições hormonais.

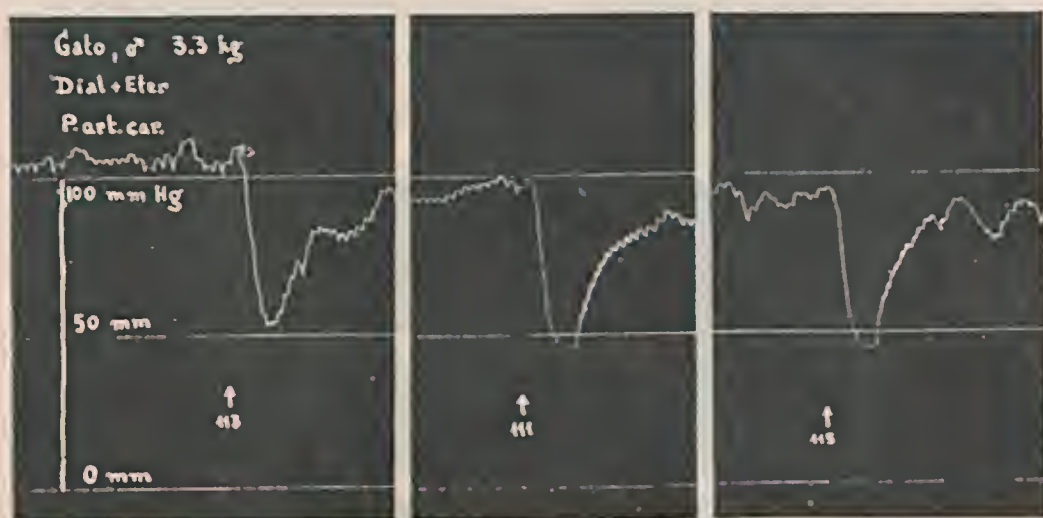



FIG. 4

Pressão arterial carotidiana de gato anestesiado com *Dial* e eter.
Extrato 111 — Genitália de ratos tratados com oleo puro
Extrato 113 — Genitália de ratos tratados com Testosterona
Extrato 115 — Genitália de ratos tratados com Estradiol

As flexas assinalam a injeção na femural de 1 cm³ do extrato diluido ao décimo. Notar que o efeito hipotensor foi da mesma intensidade nos três casos.

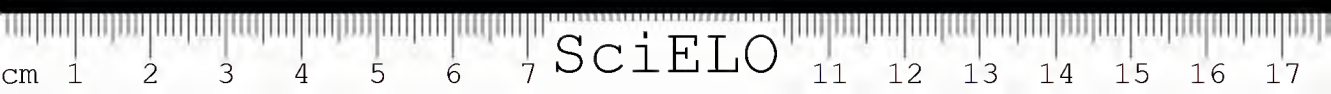
## ABSTRACT

Previous works on hormonal control of the contractility and pharmacological reactivity "in vitro" of male genital organs had suggested an assay of the acetylcholine content of vasa deferentia, seminal vesicles and coagulating glands of normal, spayed, and testosterone, estradiol or stilboestrol treated rats. 116 extracts from genitals, small intestine, spleen, cremaster and scrotal skin were prepared according to the method of Chang and Gaddum and tested on dorsal muscle of eserinized leech *Diplobdella brasiliensis*. In some instances blood pressure of cats and isolated heart of frogs were also employed. Within 10 hours after the hormonal dosis subcutaneously injected, extracts of genitals and intestine exhibited quite the same activity whereas those of spleen and scrotal skin were negative. It was concluded that in rats the acetylcholine content of genital organs is not increased by androgens or estrogens. It is hardly possible, therefore, that in this species, under the action of gonadal hormones, acetylcholine or acetylcholine-like substances may have an important rôle in the initial processes ocurring at the genital male musculature.

## BIBLIOGRAFIA


1. *Martins, Th. & Valle, J. R.* — Endocrine control of the male accessory genital organs — Endocrinology **25**:80-90.1939.
2. *Martins, Th.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Neuere Ergebnisse über die Pharmakologie von Samenleiter, Samenblase und Prostata "in vitro" von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelter Ratten — Ztschr. f. d. ges. exp. Medizin **105**:512-521.1939.
3. *Martins, Th.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Sobre a duração do tratamento necessario para que os hormonios sexuais influam sobre a contratilidade "in vitro" dos canais deferentes e vesículas seminais de ratos castrados — Mem. Inst. Butantan **14**:129-136.1940.
4. *Reynolds, S.* — Acetylcholine content of uteri before and after administration of oestrin to ovariectomized rabbits. — J. Physiol. **95**:258. 1939.
5. *Reynolds, S. & Foster, F.* — Species differences in the cholinergic action of estrogen — Amer. J. Physiol. **131**:200-203. 1940.
6. *Chang, H. & Gaddun, J.* — Choline esters in tissue extracts — J. Physiol. **79**:255-285. 1933.
7. *Valle, J. R.* — Sensibilidade à acetilcolina da sanguesuga *Diplobdella brasiliensis* (PINTO, 1920) — Mem. Inst. **15**:17-25. 1941.
8. *Holden, R. B.* — Vascular reactions of the uterus of the immature rat — Endocrinology **25**(4):593-596. 1939.


(Trabalho da Secção de En[illegible]gia do Instituto Butantan
Entregue para publicação em 11 de outubro de 1943 e
dado à publicidade em dezembro de 1943).

591.19:612.019

# FARMACOLOGIA COMPARADA DO CANAL DEFERENTE DO COELHO NORMAL E CASTRADO

POR

ANANIAS PORTO

Está bem estabelecido que no rato (1), gato (2) e rhesus (3) a castração conduz ao aparecimento "in vitro" de movimentos automaticos na musculatura lisa genital masculina. No homem (4) e no cão (5) parece que o mesmo fenômeno ocorre, ao passo que no cobaio (6) tais movimentos existem mesmo em animais normais. Quanto à excitabilidade farmacológica, de um modo geral, os orgãos provenientes de animais castrados ou castrados tratados com estrogenos são mais excitaveis do que os de normais ou castrados tratados com androgenos.

No presente trabalho incluimos na serie mais uma especie, o coelho, ainda não estudado neste particular.

*Material e técnica*: Utilizamos em nossas experiencias a mesma técnica adotada nos trabalhos anteriores, aos quais reportamos o leitor para minucias.

Empregamos coelhos de peso entre 1550 e 2400 g, castrados por via escrotal e utilizamos os canais deferentes 31 a 108 dias depois da operação. No momento da experiencia o orgão era retirado sob narcose pelo eter e colocado imediatamente no Locke oxigenado a 38°. Em alguns coelhos normais ao retirarmos o primeiro canal deferente faziamos tambem a ablação do testículo correspondente, de modo que o animal ao fornecer o segundo canal era hemicastrado. Como o comportamento dos orgãos de animais nestas condições foi sempre normal, tais deferentes foram incluidos no grupo destes.

Em quasi todas as experiencias após o ensaio das diversas drogas, os orgãos eram conservados em Locke na geladeira para serem estudados dias depois uma ou mais vezes. Tal como no rato (7) a conservação a baixa temperatura não altera, principalmente nos primeiros dias, o comportamento dos canais deferentes à ação dos agentes farmacológicos.

Estudamos um total de 20 canais deferentes, dos quais 10 provenientes de 7 coelhos castrados e 10 obtidos de outros 7 animais normais.

*Drogas ensaiadas:* Estudamos a influencia da ádição das seguintes drogas e nas concentrações finais no banho nutridor (60 $cm^3$ de Locke) Cloridrato de Adrenalina 1:1200.000 a 1:3600.000; Sulfato de atropina 1:120.000 a 1:240.000; Cloridrato de acetilcolina 1:120.000 a 1:600.000; Cloridrato de Pilocarpina 1:120.000 a 1:600.000; Cloridrato de Efedrina 1:30.000 a 1:120.000; Cloreto de Bario 1:60.000 a 1:120 000; Bi-cloridrato de histamina 1:240.000 a 1:1200.000; Cloridrato de Cocaina 1:30.000 a 1:60.000; Pituitrina 1 a 2 unidades internacionais em 60 $cm^3$ de Locke.

*Resultados e discussão. Automatismo:* Dos dez canais deferentes provenientes de animais castrados, sómente um deixou de apresentar movimentos automáticos antes da adição de qualquer droga ao banho nutridor. Todos os demais apresentaram tais movimentos rítmicos. Quanto aos normais sómente dois canais, ambos pertencentes ao mesmo coelho número 6 de 1500 g, apresentaram automatismo. Os 8 canais restantes não exibiram movimento espontaneos.

*Reação às drogas: Adrenalina.* Ótimo excitante, tanto do normal como do castrado, havendo uma tendencia ao tonus em ambos, porem muito mais nitida no normal. Após a ergotamina (1:240.000) a adrenalina não excitou, ao contrario do que acontece com a adição previa de cocaina, em que a ação da adrenalina é reforçada.

*Acetilcolina:* Excitante regular dos canais deferentes. Em comparação com outras especies, por exemplo o cobaio, os orgãos se mostraram pouco sensiveis a este agente farmacológico. A ação da acetilcolina é reforçada pela adição previa de sulfato de eserina (1:600.000).

*Pilocarpina:* Mau excitante para o normal, que em alguns casos reagiu apresentando sómente ritmo, de muito pequena amplitude. Em geral os castrados reagiam bem e de preferencia com ritmo.

*Efedrina:* Os castrados respondiam melhor do que os normais a esta droga. E' um excitante sobretudo rítmico do castrado.

*Bario:* Excitante regular para ambos, preferentemente dando rítmo, mesmo em normais.

*Histamina:* Excitante preferencial do normal, reagindo mal os castrados a esta substancia. Parece ser a droga diferencial entre normais e castrados.

*Cocaina:* Raramente os canais deferentes provindos de coelhos normais reagiram a esta droga, que, no entanto, excitava os mesmos orgãos de castrados.

*Atropina:* E' um inibidor dos canais deferentes; nas doses empregadas inibe sobretudo o tonus.

*Pituitrina:* Com exceção de algumas inibições obtidas em castrados, embora passageiras, esta droga mostrou-se incapaz de excitar os orgãos quer de animais normais, quer de castrados.

Semelhantemente ao que ocorre nas outras especies estudadas, de um modo geral os canais deferentes provenientes de coelhos castrados, alem de apresentarem uma excitabilidade maior do que os de normais, têm uma tendencia à reação ritmica ao passo que os normais apresentaram, com maior frequencia, uma reação tônica ou tônico-ritmica. Das drogas ensaiadas parece ser a adrenalina o excitante típico da espécie, não importando as condições do doador; a histamina seria o reagente diferencial entre normais e castrados. Não pudemos verificar uma sensibilização ao principio oxitócico do lobo posterior da hipófise pela retirada do testiculo, tendo havido mesmo alguns casos de inibição passageira do ritmo em canais deferentes, obtidos de animais castrados.

## RESUMO

Estuda o A. a farmacologia comparada "in vitro" do canal deferente do coelho normal e castrado. Verifica o aparecimento de automatismo e maior excitabilidade farmacológica nos orgãos provenientes de animais castrados, enquanto que os obtidos de coelhos normais não apresentam tais movimentos.

Depois de estudar a influencia da adição ao banho nutridor dos principais agentes farmacológicos, chama atenção para certas particularidades das respostas obtidas nesta espécie, como a maior reatividade dos normais à histamina, a insensibilidade ao fator oxitócico do lobo posterior da hipófise, mesmo em coelhos castrados e a diferença qualitativa na resposta entre normais e castrados. Os orgãos provenientes de animais castrados têm maior tendencia às respostas ritmicas, ao passo que os normais reagem preferentemente com tonus com oscilações ritmicas.

## ABSTRACT

The comparative pharmacology "in vitro" of the vasa deferentia of normal and castrated rabbits was studied. Like in rats, cats and monkeys, also in this species movements and higher pharmacologic excitability were observed mainly in the organs of castrated donors. It seems, nevertheless, that the response to histamin is stronger in organs from normal than from castrated rabbits. In the great majority of instances the vasa deferentia from castrated donors exhibited rhythmic responses while those from normal ones reacted with tonus or tonus and rhythmus.

It was not observed with the castration, like it occurs in cats, a sensitization of the vas deferens to the oxytocic factor of the hypophysis.

## BIBLIOGRAFIA


1. *Martins, Thales; Valle, J. R.* und *Porto, A.* — Neure Ergebnisse über die Pharmakologie von Samenleiter, Samenblase und Prostata "in vitro" von normale, kastriertern und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. g. Exper. Medizin **105**: 512-520. 1939.
2. *Martins, Thales* und *Valle, J. R.* — Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter normaler, kastrierter und mit Sexualhormonen behandelter Katzen. — Pflügers Arch. f. d. g. Physiol. **243**(3) : 243. 1940
3. *Martins, Thales; Valle, J. R.* und *Porto, A.* — Die endokrine Kontrole der Motilität der mannlichen akzessorischen Genitalorgane. Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenblasen von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Rhesusaffen — Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. des Menschen u. d Tiere **242**:134. 1939.
4. *Martins, Thales; Valle, J. R. & Porto, A.* — Contractilité, survie et pharmacologie "in vitro" du canal déférent humain — C. R. Soc. Biol. **129**:1166. 1938.
5. *Valle, J. R. & Porto, A.* — Farmacologia do canal deferente de cães em diversas condições hormonais — Rev. Bras. Biol. Em publicação .
6. *Valle, J. R. & Porto, A.* — Novos resultados do estudo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina do cobaio. Influencia do estilboestrol — Mem. Inst. Butantan XV:1.1941.
7. *Martins, Thales & Porto, A.* — Contractilité et réactions pharmacologiques des cannaux déférents et des vésicules séminales après conservation à basse température, de rats normaux, castrés et traités par les hormones sexuelles. C. R. Soc. Biol. **127**:1389.1938.


(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 28 de setembro de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

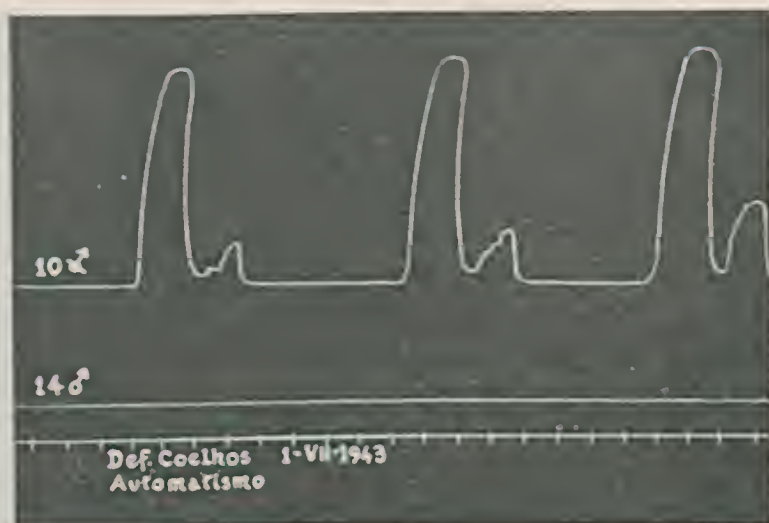



FIG. 1

Canais deferentes de coelhos. Em cima coelho 10 castrado 51 dias antes. Em baixo coelho normal 14. Automatismo do castrado.

FIG. 2

Os mesmos orgãos da fig. anterior. A seta indica a adição de cloridrato de adrenalina a 1:1.200.000 ao banho nutridor. Notar o tonus no normal e o tonus-ritmo no castrado.

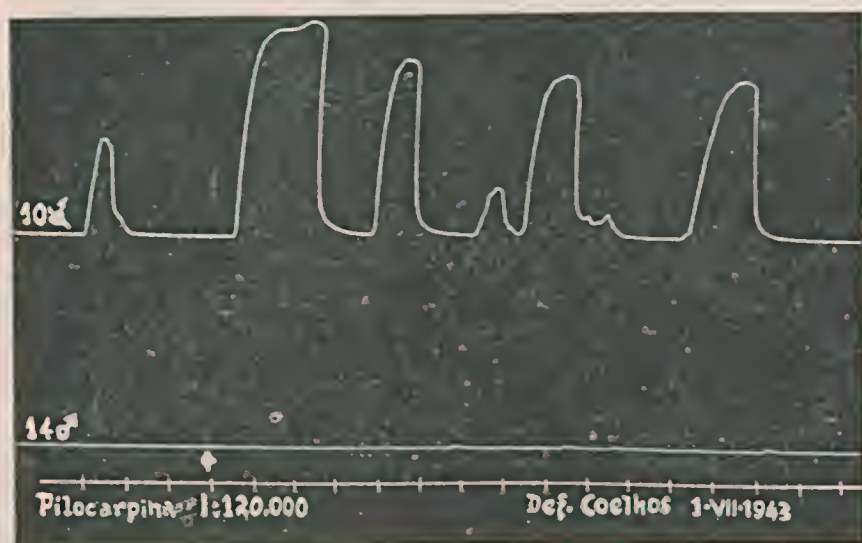



FIG. 3

Os mesmos orgãos das figs. anteriores. A flecha assinala a adição de cloridrato de pilocarpina a 1:120.000 ao banho nutridor. Observar as leves contrações do normal e amplas do castrado.

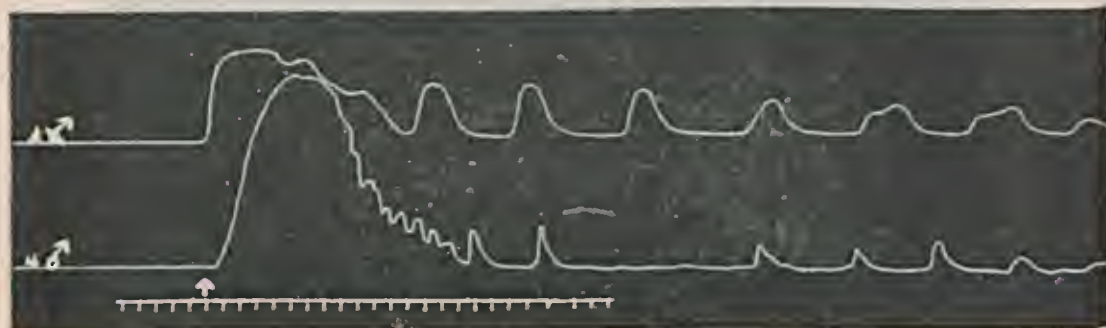



FIG. 4

Canais deferentes dos coelhos 1 (em cima) castrado 57 dias antes e 4 (em baixo) normal. Assinalada a adição de cloridrato de acetilcolina a 1:120.000.

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVII — 1943

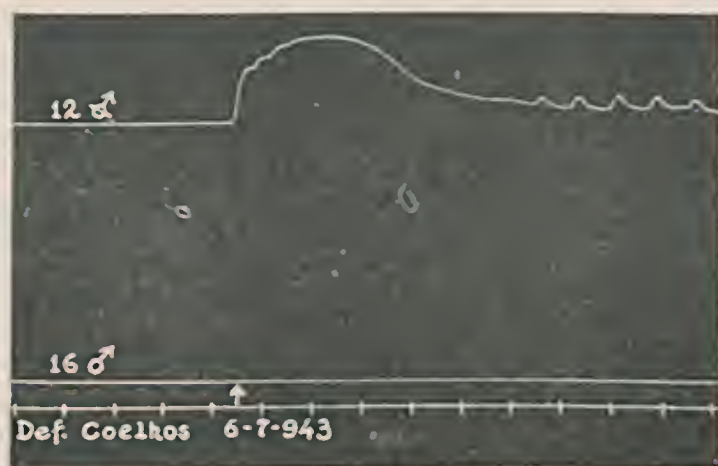



FIG. 5

Canais deferentes de coelhos. Em cima 12 castrado 62 dias antes; em baixo 16 normal. A seta indica a adição de cloridrato de adrenalina a 1:2.400.000. Notar que o normal não reagiu.

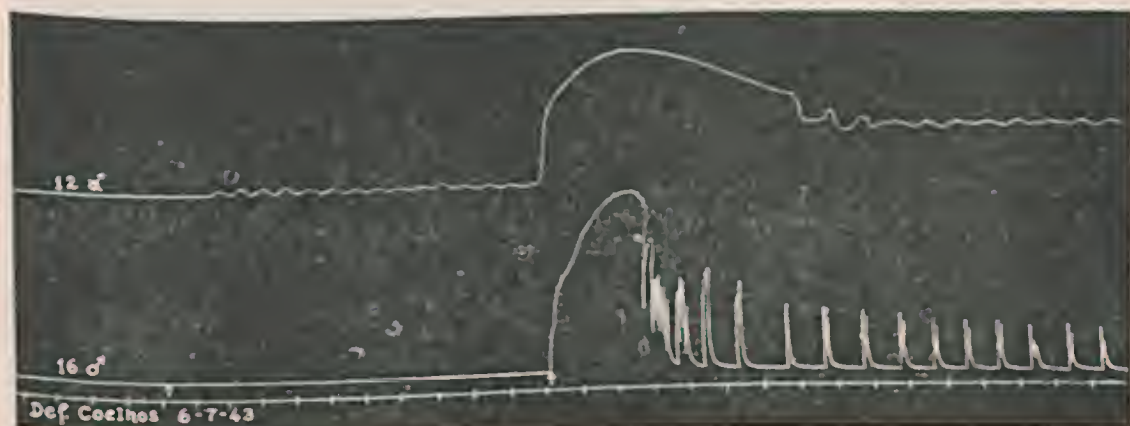



FIG. 6

Os mesmos orgãos da fig. anterior. A 1.ª seta indica a adição de cloridrato de cocaina a 1:60.000 e a 2.ª a junção de cloridrato de adrenalina a 1:2.400.000. Observar, comparando-se com a fig. 5, a sensibilização do normal à adrenalina.

591.19:612.492

# SOBRE A PASSAGEM DE SUBSTANCIAS ANDROGÊNICAS NAS PARABIOSES DE RATOS CASTRADOS COM RATOS NORMAIS

POR

ANANIAS PORTO

---

## INTRODUÇÃO

Uma das técnicas mais correntes em endocrinologia e que tem servido para o esclarecimento de inumeros problemas é a de parabiose. Termo criado por Sauerbruch e Heyde, em 1908, embora a técnica já fosse utilizada em 1862 por Paul Bert, parabiose é, segundo a definição de Thales Martins (1) "a união cirurgica de dois ou mais animais, suturados um ao outro, de modo que após a cicatrização vivam em commum, com trocas humorais mutuas, atravez de uma comunhão da rede capilar limitrofe, ou mesmo de vasos visiveis a olho nú". A parabiose pode ser feita apenas pela pele ou então pela chamada celioanastomose, que é a técnica de Sauerbruch e Heyde. Consiste esta em uma incisão longitudinal da pele lateral, do quadril ao omoplata, abertura da parede muscular da cavidade abdominal e sutura dos labios da ferida em dois planos. Com esta técnica as cavidades abdominais ficam em comunicação e não são raras as aderencias intestinais entre os parabiontes. Compreende-se facilmente que por esta técnica as trocas são bem intensas, dada a grande superfície de união.

## TRABALHOS ANTERIORES

Matsuyama (2) em 1921 na parabiose de um rato normal com um castrado, sem importar o sexo deste, notava, no normal, alterações interessantes para o lado da genitalia. Si femea os ovarios cresciam, tornando-se cisticos ou luteinizados, o utero se hipertrofiava, com aumento das secreções, e, si macho, aumento do testiculo e das glândulas acessorias. No companheiro castrado nada

observava, alem da involução natural, como nos castrados isolados. O A. apenas constatou o fato, sem procurar explica-lo. No ano seguinte, Goto (3) confirma esses trabalhos e admite a existencia, no castrado, de uma substancia — o Kastrhormon — como responsavel por estas alterações.

Martins (4), Kallas (5) e Fels (6), independentemente uns dos outros, retomaram a questão e a esclareceram, utilizando os dados sobre a fisiologia da hipófise, já então conhecidos. Admitem todos, sem discordancia, que a castração produz uma hipertrofia da hipófise e que o hormonio gonadoestimulante circulando em excesso passa para o parabionte normal, determinando os efeitos conhecidos. A prova crucial do problema, porem, foi dado por Martins e Mello (7) que uniram um rato normal com um castrado hipofisoprivo. Nestes casos o normal não apresentava a hipertrofia da gonada, por falta naturalmente do hormonio gonadoestimulante, do parceiro castrado. Deste modo o fato admitido é que o hormonio gonadoestimulante (H. G. E.) de natureza proteica, circulando em excesso num parabionte castrado, passa atravez da rede capilar de união, ao companheiro normal.

Com os hormonios sexuais já não se dá o mesmo. Na união de duas femeas, sendo uma castrada, nesta verificou Martins (8) o aparecimento de periodos estrais prolongados, indicando a passagem dos estrogenos. Há autores que discordam, como Fels (9), Moeller-Christensen (10), Kallas (11), ao passo que outros o confirmam, como Hill (12) etc., ficando hoje assente que as substancias estrogênicas, neste tipo de experiencia passam, si se utiliza como prova o aparecimento de estro na castrada. Os resultados negativos podem ser explicados pela deficiencia na rede capilar de união. O metodo sempre seguido por Martins foi o de celioanastomose.

Para a progesterona, há os trabalhos de Hill, em ratas (13) e González Collazo (14). Castrava, o primeiro deles, uma das ratas e fazia com que se tornasse prenhe a parceira. Deste modo, na castrada, desaparecia o estro, só reaparecendo após o parto. Isto indicava que a progesterona dos corpos amarelos gravídicos agindo na castrada, produzia aquela mucificação vaginal típica da ação deste hormonio.

Quanto aos androgenos o caso muda completamente de figura: mesmo usando a celioanastomose, ou ainda o artificio da redução dos receptores do normal, como fez Martins (15) não se conseguiu demonstrar essa passagem.

Fels (16) usando ratos, fez a parabiose de dois animais castrados. Num deles injetava testosterona, procurando os resultados na genitalia do outro. Para obter estímulo às genitalias deste último era necessaria a dose diaria de 5 mg no parceiro quando ambos eram femeas, dizendo o autor que tal quantidade, um rato normal nunca elaboraria em condições fisiologicas. Portanto para haver a passagem seria preciso aumentar a produção do normal.

Há um fato interessante na verificação da passagem das substancias estrogenicas: os diversos A. A. tomam sempre como test, o aparecimento do estro na parabionte castrada. O que nenhum autor mostrou foi o crescimento dos cornos uterinos. Todos são unanimes em apresentar um utero atrofico, de castração. Em outras palavras: não existisse a reação vaginal, cuja docilidade é de todos conhecida, ainda talvez, estivessemos para os estrogenos, como estamos para os androgenos, isto é, na dúvida si eles passam ou não.

Portanto, quando Fels diz ser preciso para haver passagem um aumento na produção do hormonio pelo normal, achamos que tal aumento não é necessario e sim um abaixamento do limiar de reação do test utilizado. Em outras palavras: passagem há nas condições fisiologicas da parabiose, a questão é um test bastante sensivel para demonstrá-la.

Baseados nesta hipotese retomamos a questão, utilizando um test muito sensivel, o da colchicina.

## MATERIAL E TÉCNICA

A técnica de parabiose por nós utilizada foi a celioanastomose de Sauerbruch e Heyde. Os ratos eram albinos, da linhagem B A W (descendentes de Wistar originais e Wistar importados de Buenos Aires) de nosso Laboratorio.

Utilizamos inicialmente a parabiose simples de dois ratos num total de 34 pares e depois a união de três animais — parabiose triplice — em que fizemos 30 experiencias (*). Neste caso o castrado sempre colocado no meio, receberia uma quantidade dupla de sangue e portanto de hormonio, daqueles em parabioses de dois.

Os tests para androgenos, quando se utiliza a genitalia acessoria de pequenos roedores, podem ser de dois tipos, como propoz Martins (17): o profilatico e o regenerativo.

No primeiro caso o tratamento começa no mesmo dia da castração, impedindo assim a atrofia da genitalia acessoria. No segundo tipo o tratamento só é iniciado alguns dias após a retirada dos testiculos, isto é, após tempo suficiente para obter a atrofia post-operatoria. Neste 2.° tipo a quantidade de hormonio necessaria deverá ser maior que no primeiro, pois se trata não do impedimento da atrofia, mas sim de corrigir uma atrofia já instalada. A dose não será, portanto, de manutenção e sim de crescimento.

Outro test para androgenos, mas ainda utilizando a genitalia acessoria dos roedores é o da colchicina.

---

(*) Para melhor fixar os animais utilizamos uma canga de arame de aço No. 25 idealizada por nosso auxiliar técnico Francisco Ribeiro Gomes.

Dustin (18) mostrou que o alcaloide de *Colchicum autumnale* L. tem a propriedade de fazer parar numa de suas fases, em geral metafase, as células em reprodução. Martins (19) utilizando esta propriedade propoz o test da colchicina para os androgenos. Consiste o método em injetar-se a substancia a ser testada em ratos castrados, que 14 horas depois recebem colchicina, sendo os animais sacrificados 10 horas após esta ou 24 horas a contar da injeção da substancia desconhecida. Corta-se a vesicula cu prostata e procuram-se as células em mitose. Com esta técnica pode-se "fotografar as células em reprodução, num determinado tempo".

Loew e Voss (20) haviam proposto como test as células em mitose da genitalia acessoria, porem, como poucas eram as células surpreendidas em reprodução, foi o mesmo abandonado, até o advento da colchicina.

O trabalho de Martins foi logo confirmado e aplicado a outros hormonios, como prolatina por Leblond e Allen (21) ; tireotropico, Bastemil e Zylberszac (22) ; Allen, Smith e Gardner (23), para os estrogenos, etc.

Test bastante sensivel, pois segundo Burkhart (24) revela quantidades iguais a 0,013 mg de propionato de testosterona, foi por nós tambem utilizado.

Ainda mais, com o intuito de forçar a passagem, utilizamos um artificio de técnica, já usado por Martins: (17) a retirada tão ampla, quanto possivel, dos genitais acessorios do normal, isto é, vesicula seminal, prostata, canais deferentes e epididimos. Com isto esperavamos que, por falta de consumidores, sobrasse mais androgenos, para circulando em maior teor no normal, passar para o castrado. Neste ainda retiravamos a maior parte da genitalia acessoria, deixando somente a prostata e uma vesicula, ou um só lobo prostatico. Assim todo o hormonio disponivel pelo castrado iria agir em pequeno territorio, tornando mais nítidos seus efeitos.

Com a redução dos receptores no rato normal, em que só conservavamos os dois testiculos na bolsa, a regra era a degeneração da seminal, porem sabemos que os caractéres sexuais secundarios neste caso são conservados sem alteração. No entanto como para retirar uma vesicula no castrado eramos obrigados a ligar na base, poderia, por falta de irrigação, a outra deixar de reagir. Fizemos algumas indagações preliminares para elucidar esta questão. Assim em normais retiravamos uma vesicula, pesavamos e completavamos a redução, conservando os testiculos na bolsa. Tempos após reabriamos o rato, retiravamos a vesicula restante e a pesavamos, fazendo assim o controle da ligadura. Um exemplo é o rato número 3 do par 17. A vesicula esquerda no dia da redução pesou 24 mg e 30 dias depois a direita pesou 80 mg. Apesar da redução dos receptores do normal (*), ser a mais cuidadosa possivel ficava sempre ou quasi sempre, restos de

(*) Sempre que utilizarmos a designação "rato normal" compreende-se que são normais quanto à produção de substancias capazes de manter a genitalia acessoria em seus caractéres normais.

prostata. Utilizavamos estes restos como controle do funcionamento dos testiculos, pois resta sempre a possibilidade de nesta operação previa, prejudicar-se a irrigação testicular.

Em alguns animais, inicialmente, tentamos a hepatectomia parcial, ainda com o mesmo espirito: eliminar o mais possivel os destruidores do hormonio, pois o figado tem essa propriedade. Porem como a porção restante do figado rapidamente se regenera, como verificou Jáuregui Guillermo (25) e dado serem nossas experiencias de longa duração, ao fim de certo tempo nossa operação se tornava inutil, motivo porque abandonamos tal pratica.

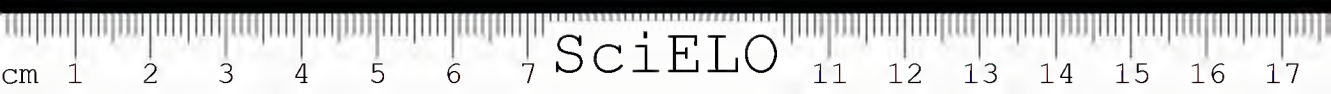
Dada a variação de técnica utilizada nas 38 parabioses observadas até o fim, das 64 feitas, vamos analisar as mesmas por grupos, tornando assim mais facil a exposição.

1) **Parabioses de dois animais.**

a) Test regenerativo.

Utilizamos 15 pares, num dos quais — o número 20 — só as prostatas foram conservadas para o test da colchicina, não sendo, portanto, pesadas. No quadro abaixo temos os pesos dos animais nos dias da parabiose e autopsia; dias de duração de castração e dias de sobrevida em parabiose. Nos casos em que empregamos a colchicina o foi na dose de 2-3 mg por kg num volume variavel de 0.2 a 0.4 cm³ e a leitura era feita 7 horas após. Os orgãos fixados em Bouin, corte de 5 micra e coloração pela H. E., em alguns casos, hematoxilina ferrica.

b) Test profilatico.

Neste grupo fizemos duas variantes: na primeira os animais eram unidos sem previa redução de receptores e, só após cicatrização, castravamos um e retiravamos a genitalia acessoria do outro. A segunda variante foi a de fazermos a redução dos receptores do normal e a criptorquidia no futuro castrado. Com a criptorquidia obtem-se a degeneração da seminal, hipertrofia da hipófise, como no castrado (inclusive o aparecimento de células de castração) mas manutenção dos caractéres sexuais secundarios normais da genitalia acessoria. Obtinhamos assim um estimulo previo ao testiculo do normal, sem a degeneração post-castração. Só após a cicatrização da parabiose, em media de 7 dias, faziamos a castração do criptorquidico e reduziamos-lhe os receptores. Neste grupo empregamos 8 pares cujos detalhes se encontram no quadro abaixo:

QUADRO I

## PARABIOSES DE 2 RATOS

Test Regenerativo

| Par No. | Rato No. e condições | Dias de Castração ou Redução Receptores | Dias de Parabiose | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia: Castração | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia: Autopsia | Peso do Rato em g — Dia: Castração | Peso do Rato em g — Dia: Autopsia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 1 castrado | 22 | 17 | 85 | 29 | 115 | 104 |
| | 6 normal | 22 | | 82 | — | 106 | 104 |
| 4 | 8 castrado | 31 | 25 | 49 | 26 | 117 | 112 |
| | 4 normal | 31 | | 86 | 53 | 125 | 112 |
| 5 | 9 castrado | 23 | 21 | 67 | 26 | 125 | 120 |
| | 1 normal | 23 | | 95 | — | 133 | 120 |
| 6 | 7 castrado | 18 | 14 | 43 | 35 | 120 | 132 |
| | 12 normal | 18 | | 104 | 93 | 162 | 132 |
| 7 | 4 castrado | 27 | 21 | 74 | 32 | 166 | 150 |
| | 5 normal | 27 | | 84 | 39 | 165 | 150 |
| 8 | 8 castrado | 28 | 22 | 150 | 53 | 166 | 140 |
| | 3 normal | 28 | | 175 | — | 179 | 140 |
| 10 | 2 castrado | 84 | 23 | 20 | 16 | 114 | 181 |
| | 11 normal | 41 | | 65 | 46 | 172 | 181 |
| 11 | 6 castrado | 42 | 21 | 87 | 25 | 137 | 142 |
| | 12 normal | 42 | | 46 | — | 140 | 142 |
| 12 | 3 castrado | 70 | 25 | 12 | 43 | 110 | 150 |
| | 2 normal | 54 | | 94 | — | 147 | 150 |
| 13 | 4 castrado | 76 | 42 | 160 | 5 | 163 | 195 |
| | 6 normal | 76 | | 196 | 585 | 143 | 195 |
| 14 | 9 castrado | 46 | 19 | 57 | 23 | 125 | 177 |
| | 1 normal | 46 | | 54 | — | 140 | 177 |
| 15 | 7 castrado | 46 | 18 | 97 | 32 | 151 | 175 |
| | 3 normal | 46 | | 73 | 626 | 155 | 175 |
| 16 | 3 castrado | 63 | 29 | 163 | 126 | 160 | 210 |
| | 6 normal | 63 | | 131 | 575 | 182 | 210 |
| 17 | 2 castrado | 63 | 21 | 23 | 12 | 130 | 152 |
| | 9 normal | 63 | | 24 | 205 | 132 | 152 |
| 20 | 1 castrado | 40 | 16 | — | — | 114 | 112 |
| | 3 normal | 40 | | — | 556 | 114 | 112 |

No par 20 só se conservou a prostata para colchicina. Na coluna de pesos das vesiculas no dia da autopsia os pesos anotados se referem, nos animais normais, a restos de prostatas encontrados.

QUADRO II

PARABIOSES DE 2 RATOS

Test: Profilatico

| Par No. | Rato No. e condições | Dias de Castração ou Redução Receptores | Dias de Parabiose | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia Castração | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia Autopsia | Peso do Rato em g — Dia Castração | Peso do Rato em g — Dia Autopsia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 21 | 1 castrado | 16 | 26 | 110 | 33 | 145 | 136 |
| | 1 normal | 16 | | 85 | 169 | 145 | 136 |
| 23 | 1 castrado | 21 | 32 | 80 | 36 | 135 | 145 |
| | 1 normal | 21 | | 150 | 162 | 135 | 145 |
| 24 | 9 castrado | 14 | 25 | 111 | 37 | 175 | 112 |
| | 11 normal | 14 | | 137 | — | 175 | 112 |
| 27 | 8 castrado | 8 | 16 | 52 | 38 | 128 | 122 |
| | 7 normal | 8 | — | 20 | — | 128 | 122 |
| 29 | 6 castrado | 4 | 11 | 84 | 82 | 132 | 126 |
| | 3 normal | 4 | | 122 | — | 132 | 126 |
| 30 | 5 castrado | 14 | 28 | 83 | 47 | 135 | 124 |
| | 9 normal | 14 | | 46 | — | 135 | 124 |
| 31 | 12 castrado | 13 | 21 | 62 | 40 | 160 | 131 |
| | 4 normal | 13 | | 109 | — | 160 | 131 |
| 33 | 8 castrado | 15 | 26 | 67 | 32 | 141 | 125 |
| | 3 normal | 15 | | 120 | — | 141 | 125 |

Os pesos anotados na coluna das vesiculas no dia da autopsia, nos ratos normais, referem-se a restos de prostatas.

**2) Parabioses de três animais.**

Dividimos tambem aqui em 2 grupos, o profilatico e o regenerativo, sendo o castrado sempre colocado no meio, entre dois normais.

a) Test profilatico.

Neste grupo utilizamos 3 triplices, cujos detalhes se encontram no quadro abaixo:

QUADRO III

PARABIOSES DE 3 ANIMAIS

Test Profilatico

| Tríplice No. | Rato No. e condições | Dias de Castração ou Redução Receptores | Dias de Parabiose | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia: Castração | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia: Autopsia | Peso do Rato em g — Dia: Castração | Peso do Rato em g — Dia: Autopsia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9 | 1 normal | 6 | 14 | 55 | — | 130 | 123 |
| | 3 castrado | 6 | | 64 | 53 | 130 | 123 |
| | 2 normal | 6 | | 47 | — | 130 | 123 |
| 10 | 1 normal | 22 | 31 | 83 | — | 123 | 136 |
| | 3 castrado | 22 | | 60 | 36 | 123 | 136 |
| | 2 normal | 22 | | 53 | — | 123 | 136 |
| 15 | 1 normal | 10 | 22 | 133 | 76 | 210 | 181 |
| | 3 castrado | 10 | | 73 | 39 | 210 | 181 |
| | 2 normal | 10 | | 140 | 64 | 210 | 181 |

Na coluna de pesos das vesiculas no dia da autopsia os pesos assinalados para os ratos normais se referem a restos de prostatas encontrados.

b) Test regenerativo.

Este grupo foi subdividido em dois: no primeiro a redução dos receptores do castrado era feita em animais já adultos, precedendo de poucos dias a parabiose e no 2.º era feita em animais infantis de 40 dias (a dos normais em adultos). A união era feita 40 dias após a redução dos receptores do castrado, portanto ratos de 80 dias de idade.

Usamos 12 tríplices. Os detalhes estão no quadro IV.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela analise dos quadros I, II, III e IV, vemos que em quasi todos os casos houve uma diferença, para menos, no peso das vesiculas entre o dia da redução dos receptores e o da autopsia. As exceções foram o para 12 e os tríplices 13, 18 e 19.

A diferença notada entre estes últimos não é significativa, pois alem de ser muito pequena, os valores absolutos são muito baixos, no limiar do crescimento somatico, independente portanto da ação do hormonio. Alem disso o aspecto macro e microscopico é o de uma vesicula completamente atrofiada, de castração antiga.

Quadro IV

PARABIOSES DE 3 ANIMAIS

Test Regenerativo

| Triplice No. | Rato No. e condições | Dias de Castração ou Redução Receptores | Duração da Parabiose | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia — Castração | Peso de 1 Vesicula em mg — Dia — Autopsia | Peso do Rato em g — Dia — Castração | Peso do Rato em g — Dia — Autopsia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 normal | 38 | 38 | — | 395 | 124 | 110 |
| | 2 castrado | 38 | | — | — | 120 | 110 |
| | 3 normal | 38 | | — | 626 | 128 | 110 |
| 2 | 4 normal | 36 | 10 | — | — | 100 | 142 |
| | 6 castrado | 36 | | — | — | 100 | 142 |
| | 5 normal | 36 | | — | — | 105 | 142 |
| 3 | 4 normal | 31 | 11 | — | 315 | 120 | 111 |
| | 6 castrado | 31 | | — | — | 118 | 111 |
| | 5 normal | 31 | | — | 317 | 124 | 111 |
| 4 | 1 normal | 31 | 10 | — | 80 | 123 | 100 |
| | 3 castrado | 31 | | — | 40 | 124 | 100 |
| | 2 normal | 31 | | — | 176 | 125 | 100 |
| 6 | 3 normal | 30 | 14 | 43 | 205 | 119 | 123 |
| | 4 castrado | 30 | | 33 | 15 | 121 | 123 |
| | 9 normal | 29 | | 15 | 624 | 121 | 123 |
| 7 | 5 normal | 32 | 13 | 11 | 230 | 123 | 117 |
| | 8 castrado | 32 | | 39 | 19 | 122 | 117 |
| | 7 normal | 32 | | 20 | 117 | 122 | 117 |
| 13 | 5 normal | 40 | 15 | 106 | — | 145 | 133 |
| | 4 castrado | 70 | | 3 | 8 | 50 | 133 |
| | 6 normal | 57 | | 127 | — | 145 | 133 |
| 17 | 4 normal | 40 | 20 | 141 | 363 | 166 | 143 |
| | 2 castrado | 100 | | 3 | 3 | 55 | 143 |
| | 1 normal | 57 | | 113 | — | 155 | 143 |
| 18 | 5 normal | 38 | 16 | 117 | 126 | 155 | 123 |
| | 1 castrado | 89 | | 3 | 4 | 45 | 123 |
| | 6 normal | 38 | | 139 | 162 | 160 | 123 |
| 19 | 3 normal | 25 | 17 | 186 | — | 224 | 145 |
| | 2 castrado | 89 | | 3 | 5 | 44 | 145 |
| | 4 normal | 25 | | 120 | 195 | 205 | 145 |
| 20 | 1 normal | 28 | 18 | 96 | 204 | 190 | 143 |
| | 3 castrado | 92 | | 4 | 4 | 51 | 143 |
| | 2 normal | 28 | | 126 | 630 | 189 | 143 |
| 21 | 5 normal | 27 | 14 | 164 | — | 193 | 155 |
| | 1 castrado | 84 | | 7 | 5 | 60 | 155 |
| | 6 normal | 27 | | 109 | — | 189 | 155 |

Nos triplices 1-2-3 e 4 só as prostatas foram conservadas para colchicina, não sendo pesadas as vesiculas. Na coluna de pesos das vesiculas no dia da autopsia, os pesos assinalados para os ratos normais referem-se a restos de prostatas encontrados. O mesmo significa para o rato castrado 3 do triplice 4.

A única exceção real que ocorreu foi a do par 12. O exame histologico da peça, no entanto, revela um epitelio atrofico de castração, com ausência de mitoses, embora o animal fosse tratado com colchicina. Dada a uniformidade dos resultados negativos, e o aspecto histologico da vesicula, encaramos esse achado com as devidas reservas.

Pelo test da colchicina os resultados tambem não foram significativos. Enquanto que nos castrados adultos uma ou outra mitose foi encontrada, quer nos isolados, quer nos parabiosados com normais, naqueles que foram castrados infantis o encontro de uma mitose era raro, não havendo em ambos os casos uma diferença significativa.

Podemos então concluir, que, com a técnica e os tests por nós utilizados, não pudemos comprovar a passagem das substancias androgenicas, quando se parabiosam ratos normais e castrados.

Para explicar o resultado negativo duas hipóteses ocorrem: a primeira é que realmente não passam, seja por não atingirem no normal limiar suficiente para isso, em virtude da destruição pelo figado, por exemplo, seja por serem destruidos nos capilares, ao nivel da zona de passagem. É pouco provavel a passagem depender dum limiar ou melhor dizendo duma determinada concentração no normal pois teriamos de admitir para os androgenos uma propriedade até então não assinalada — a de substancia dotada de limiar de excreção — e aos capilares uma capacidade funcional semelhante ao rim, isto é, propriedde de eliminar, no caso deixar-se atravessar, por certas substancias somente após atingirem concentração determinada. É portanto hipótese muito pouco provavel.

Quanto à destruição pelos proprios capilares é tambem pouco razoavel, pois si passa uma proteina — o gonado estimulante e um esterol — a estrina — por que só os androgenos — tambem esterois — devem ser destruidos e somente nestes capilares? Aliás Fels, no trabalho citado, demonstrou ser possivel a passagem, pelo menos quando são parabiosadas duas femeas, ambas castradas.

A segunda hipótese que ocorre é que realmente passam mas não atingem, no castrado, uma concentração suficiente para provocar efeito na genitalia. Seria apenas uma questão de destruição, pelos destruidores normais, maior que o fornecimento, e a concentração nunca atingiria limiar suficiente para a reação. Aliás é necessario não confundir limiar de passagem com limiar de ação.

Si o test fosse mais sensivel essa pequena quantidade que passa, tal como acontece com os estrogenos, seria evidenciada.

Podemos então concluir que a demonstração da passagem exige um test muito mais sensivel que os que atualmente possuimos, inclusive o test da colchicina.

## RESUMO

No presente trabalho o A. estuda o problema da circulação de substancias androgenicas em ratos parabiosados e realiza experiencias procurando demonstrar o estimulo da genitalia do castrado pelos androgenos provenientes do normal. O estimulo foi procurado enpregando-se o test da colchicina, de mitoses na prostata ventral, atualmente o mais sensivel para as substancias androgenicas. Mesmo com o emprego de artificios de técnica, como a redução dos receptores, tanto do normal como do castrado e de parabioses triplices, com o castrado entre dois normais, não foi possivel demonstrar a passagem dos androgenos para o animal castrado. Tudo faz crer, porem, que o hormonio masculino passe do normal para o castrado, não alcançando, no entanto, neste último, talvez devido à destruição, concentração suficiente para o limiar de resposta do test utilizado. A questão parece depender tambem de um test bastante sensivel capaz, como o esfregaço vaginal para os estrogenos, de revelar as quantidades minimas seguramente circulante no castrado.

## ABSTRACT

Circulation of androgens from normal to castrate male rats in parabiosis was studied by aid of the most sensitive test available: the colchicine method.

Even by employings devices as the reduction of receptors — seminal vesicles, coagulating glands, etc., or triplets, the castrate among two normals, it was impossible to detect a positive reaction revealed by the increased number of mitotic figures in the ventral prostate of the castrated partner.

This result, however, does not mean that the male hormone cannot pass through the capillaries of the parabionts. A destruction of the hormone by the liver for example, may occur bringing an insufficient level for the reaction in the castrate but we must consider also the sensitivity of the test employed. As far as the vaginal smear for estrogens is concerned, perhaps another more sensitive test for androgens could reveal the little amount indoubtly circulating in the castrate.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Thales* — Glândulas sexuais e hipófise anterior. Cia. Editora Nacional pg. 296.1935.
2. *Matsuyama, R.* — Experimentelle Untersuchung mit Rattenparabiose. Frankf. z. f. Path. 25:97.1921.
3. *Goto, N.* — Experimentelle Untersuchung der inneren Sekretion des Ovariums durch Parabiosentiere — Arch. exp. Path. u. Pharm. 94:124.1922.

4. *Martins, Thales* — Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Supl. 10 e 11:265.1929.
5. *Kallas, H.* — Pubérté précoce par parabiose — C. R. Soc. Biol. **100**:979.1929.
6. *Fels, E.* — Klin. Wosch. **8**:570.1929 e **9**:1345.1930.
7. *Martins, Thales* e *Mello, Raul Franco de* — Mem. Inst. Butantan **8**:353.1934.
8. *Martins, Thales* — Echanges hormonaux chez des animaux en parabiose. Passage de l'hormone ovarienne des sujets normaux aux sujets chatrés — C. R. Soc. Biol. **102**:605.1929 e **115**:1342.1934.
9. *Fels, E.* — *in Martins, Thales* (1).
10. *Maeller-Christensen, E.* — *in* Martins, Thales (1).
11. *Kallas, H.* — Parabiose und hypophysenvordelappen. — Pflüg. Arch. f. d. g. Physiol. **223**:232.1929-30.
12. *Hill, R.* — Estrous reactions in female rats united with castrate parabionts — Endocrinology **17**:414.1933.
13. *Hill, R.* — Exchange of estrin and corpus luteum hormones in parabiotic female rats. — Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **28**:866.1931.
14. *Ganzales Collaza, A. O.* — *in* Fels, E. (16).
15. *Martins, Thales* — Echanges hormoniques chez les animaux en parabiose. Hormones du lobe anterieur de l'hypophyse et du testicule — C. R. Soc. Biol. **103**:1341.1929.
16. *Fels, E.* — Investigaciones experimentales sobre el intercambio de las hormonas sexuales en la parabiosis. I. Las cantidades hormonales necesarias para el intercambio — Anales de la Fac. de Med. de Montevideo — Livro Jubilar Prof. L. Fraenkel, pg. 142.1940.
17. *Martins, Thales & Silva, A. Racha e* — Utilisation des vésicules séminales de la souris blanche comme test des hormones testiculaires — C. R. Soc. Biol. **102**:480 e 485.1929 e **105**:107.1930.
18. *Dustin, A. P.* — *in* Martins, Thales (19).
19. *Martins, Thales* — Test rapide de l'hormone masculine: mitoses dans la genitalie accessoire des mâles castrés — C. R. Soc. Biol. **126**:131.1937.
20. *Lacwe, S. & Vass, H.* — *in* Martins, Thales (19).
21. *Lebland, C. P. & Allen, E.* — Emphasis of the growth effect of prolatin on the crop-gland of the pigeon by arrest of mitoses with colchicine — Endocrinology **21**:455.1937.
22. *Bastenie, P. & Zylberszac, S.* — Mise en évidence de stimulations hormonales para la colchicine. Détection de stimulation thyroidienne par l'extrait anti-hypophysaire — C. R. Soc. Biol. **126**:446.1937.
23. *Allen, E.; Smith, G. & Gardner, W. V.* — A short test for ovarian follicular hormone and other estrogens — Endocrinology **21**:412.1937.
24. *Burkhart, E. Z.* — A study of the early effects of androgenic substances in the rat by the aid of colchicine — J. Exp. Zool **89**:135.1942.
25. *Jáuregui Guillermo, R.* — Inactivación de los estrogenos por el hígado — Rev. Soc. Arg. Biol. **19**:3.1943.


(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 3 de setembro de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

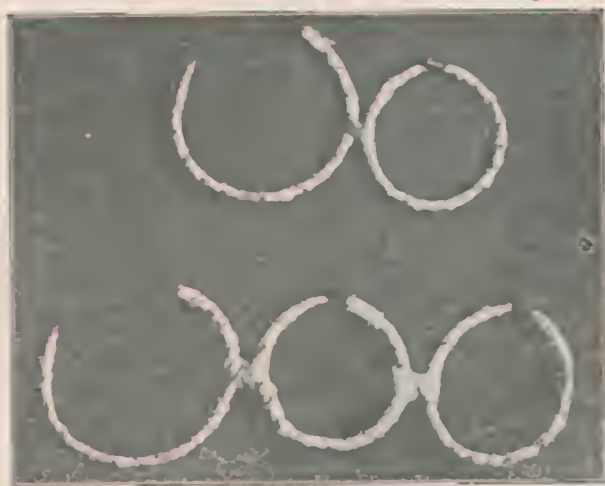



FIG. 1
Cangas utilizadas na contenção dos ratos em parabiose de dois e tres animais.

FIG. 2
Parabiose de tres ratos. O do centro é castrado e os dois laterais são normais.

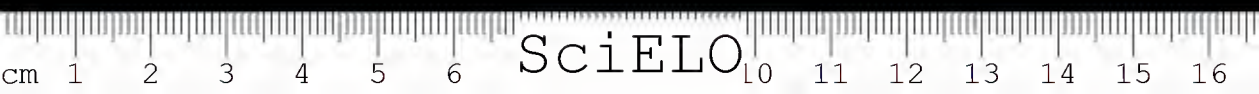



Fig. 3

Corte de vesicula seminal do rato 3, castrado, do par 12. Apesar do aumento absoluto do peso (de 12 para 43 mg) notar o aspecto atrofico do epitelio. Este rato que recebeu colchicina não apresenta celulas em mitose. Col. H. E. 5 micra 85×

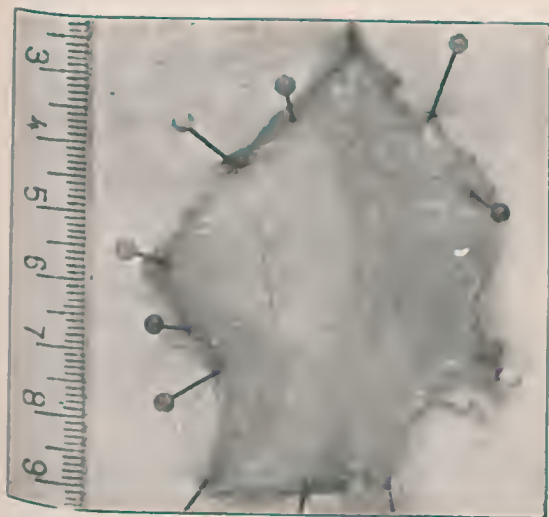
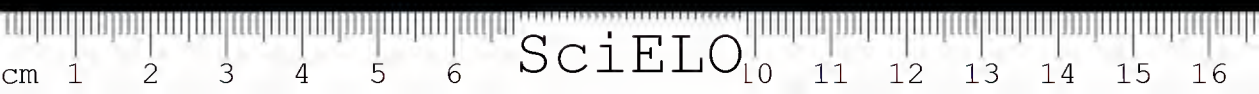



Fig. 4

Pele de dois ratos parabiosados no ponto de sutura. Notar os vasos visiveis a olho nú.

612.402

# EFEITO DA PROGESTERONA NAS AMENORRÉIAS

POR

LUCIANO DÉCOURT & J. I. LOBO

Deve-se a Zondek (1) a verificação de que a progesterona, administrada a pacientes que sofrem de amenorréia secundaria, é capaz de provocar o aparecimento do fluxo menstrual. Segundo a técnica de Zondek, o hormonio do corpo luteo é injetado na dose de 10 mg durante 5 dias seguidos. Uma variante dessa técnica consiste na administração dos 50 mg de progesterona, em doses de 25 mg, durante 2 dias. A adição de 2,5 mg a 5 mg de benzoato de estradiol permite reduzir a dose de progesterona para 25 mg. De acordo com aquele autor, a hemorragia menstrual ocorreu, em geral, 50 a 120 horas após a última injeção.

Nas amenorréias primarias, a administração apenas da progesterona não dá qualquer resultado. O mesmo acontece nas amenorréias secundarias com mais de 2 anos de duração. Nestas 2 ultimas eventualidades é necessaria a administração previa de estrógenos. Por isso, Zondek concluiu que é exigido um certo grau de produção estrogênica para que a progesterona possa agir, isto é, possa ocasionar a hemorragia menstrual.

Em 19 casos, Zondek obteve sucesso — aparecimento da menstruação — em 17, o que dá 89,5% de resultados positivos.

O valor desse fato deve ser ressaltado, pois se consegue com um tratamento de 5 dias o mesmo que se conseguiria com o de 1 mês, e isso é, para a paciente, de grande importancia prática e psicológica.

Experimentámos tratar segundo os esquemas já enumerados, 14 casos de amnorréia secundaria. A duração da amenorréia variava de 3 meses a 5 anos, e a idade das pacientes de 14 a 41 anos.

Em alguns casos, como se vê no Quadro I, foram feitos, previamente, esfregaços vaginais com o intuito de se verificar a presença, ou não, de grandes células cariopicnóticas corneificadas, que são um índice de ação estrogênica.

Quando havia deficiente ação estrogênica, era administrado, inicialmente, o hormonio folicular segundo o método já enunciado. Sempre que possivel foi

Quadro I

| No. | Nome | Idade | Duração da Amenorréa | Tratamento | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | A. R. | 33 | 2 anos | 5 mg estrona<br>50 mg progesterona<br>(4 dias) | Menstruada 72 horas após, durante 8 dias | Paciente obesa. Feito esfregaço previamente foi verificada a ausencia de células corneificadas. |
| 2 | A. S. | 26 | 3 meses | 45 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 96 horas após a última injeção | Foi menstruada mais 3 vezes sem qualquer tratamento; amenorréia depois durante 4 meses. Exame ginecológico; útero normal, hipertrofia do clitoris. |
| 3 | J. D. | 19 | 5 anos | 5 mg B. estradiol<br>50 mg progesterona<br>(4 dias) | Menstruada 96 horas após, durante 4 dias | Ficou, em seguida, 2 meses amenorréica; feito o tratamento com 50 mg de Progesterona foi novamente menstruada. Útero hipoplásico. Caractéres sexuais secundarios normais. |
| 4 | A. D. P. | 22 | 3 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Negativo | Obesa. Útero hipoplásico. |
| 5 | Z. M. | 28 | 10 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 48 horas após | Obesa. Hipertricose. Útero hipoplásico. |
| 6 | A. K. | 41 | 1 ano | 6 mg estrona<br>40 mg progesterona<br>(4 dias) | Negativo | Esfregaço previo: ausencia de células corneificadas. Operada há 5 anos no útero (?) e desde então só era menstruada cada 6 meses, quantidade muito escassa. Menopausa (?) |
| 7 | J. L. F. | 37 | 8 meses | 6 mg estrona<br>40 mg progesterona<br>(4 dias) | Menstruada 96 horas após | Esfregaço previo; raras células corneificadas. |
| 8 | M. O. C. | 36 | 4 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Negativo | |
| 9 | L. F. P. | 14 | 9 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 24 horas após | Fez mais 2 vezes o mesmo tratamento sendo menstruada 36 e 48 horas após a última injeção. |
| 10 | R. M. | 28 | 3 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 48 horas após | As menstruações posteriores vieram normais durante 4 meses que é o tempo de observação. |
| 11 | M. L. | 39 | 8 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 48 horas após | Sem o tratamento não é menstruada. Fez por mais 3 vezes identico tratamento sendo sempre menstruada. |
| 12 | Z. G. | 19 | 4 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 28 horas após | Não aparecem novos fluxos a não ser com o tratamento, ao qual se submeteu por mais 2 vezes com resultados positivos. |
| 13 | F. B. | 21 | 5 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 72 horas após | |
| 14 | E. A. | 18 | 3 meses | 50 mg progesterona<br>(2 dias) | Menstruada 48 horas depois | Fez 2 vezes mais o mesmo tratamento sendo menstruada 48 e 54 horas após a ultima injeção. |

feito exame ginecológico, sendo que os dados assim obtidos tambem figuram no Quadro I. Do exame deste constata-se que, de 14 pacientes, apenas 3 não reagiram ao tratamento. Releva ainda acentuar que uma (A. K., caso 6) se achava, quasi com certeza, em menopausa, como se pode deduzir das observações sobre esse caso. Afastando pois, essa paciente do cômputo geral temos 11 resultados positivos e apenas 2 negativos o que nos dá a cifra de 84,6% de sucessos.

O fluxo menstrual sobreveio de 24 a 96 horas após a ultima injeção.

Nas amenorréias primarias a administração apenas da progesterona não dá resultado; é necessaria a adição de estrógenos. Zondek usa 2 mg de benzoato de estradiol, seguidos dos 50 mg de progesterona. Conseguiu, desse modo, determinar em alguns casos o aparecimento do fluxo menstrual. Nossa experiencia se baseia somente em 3 casos de amenorréia primaria. As idades das pacientes eram 17, 19 e 21 anos. Em 2 delas foi feito exame ginecológico, acusando este hipoplasia uterina, embora nessas pacientes os caractéres sexuais secundarios se apresentassem normais (seios bem desenvolvidos, pêlos axilares e pubianos abundantes, etc.). Usámos do benzoato de estradiol, doses maiores — 5 ao envez de 2 mg — do que as preconizadas por Zondek.

A progesterona foi empregada na dose de 50mg. Obtivemos, como se vê no Quadro II, 1 resultado positivo e 2 falhas.

Quadro II

| Nome | Idade | Tratamento | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|
| M. A. F. | 17 | 5 mg B. estradiol<br>50 mg Progesterona | Menstruada 72 horas após a última injeção. | Caractéres sexuais secundarios bem desenvolvidos. Útero hipoplásico (toque retal). Dosagem de estrógenos na urina: 12,2 γ %. Acompanhada durante 1 ano sem mais menstruar. |
| S. P. | 21 | 5 mg B. estradiol<br>50 mg Progesterona | — | Útero hipoplásico. Dosagem de estrógenos na urina: < que 10 γ %. |
| M. G. | 19 | 5 mg B. estradiol<br>50 mg Progesterona | — | Seios poucos desenvolvidos. Pêlos presentes nas axilas e pubis. |

## COMENTARIOS

O exato mecanismo da hemorragia menstrual ainda não foi estabelecido. Sabe-se, com certeza, que a menstruação pode sobrevir após a privação de qualquer dos hormonios sexuais — estrógenos, progesteronas e andrógenos. Interessa-nos no momento, apenas o papel desempehado pelo hormoio do corpo luteo.

Segundo Schröder (2) a menstruação resultaria da ausencia da ação da progesterona, em virtude da regressão do corpo luteo. Inúmeras verificações corroboram seu ponto de vista:

a) Pequenas doses de progesterona inibem a menstruação em macacas e retardam ou impedem a menstruação que se segue à "estrin deprivation".

b) Quando se administram, a macacas castradas, estrógenos e progesterona, a descontinuidade de apenas esta última é seguida de menstruação .

c) A ablação do corpo luteo é seguida de hemorragia menstrual.

d) A excreção do pregnandiol (produto de eliminação da progestterona) cessa pouco antes do aparecimento da menstruação.

Essa hipótese não deixa, contudo, de apresentar suas falhas, não explicando, por exemplo, a chamada menstruação não ovulatória que é mais ou menos frequente em mulheres regularmente menstruadas.

Zondek procurou verificar os efeitos resultantes da administração de progesterona, em ocasiões nas quais a mucosa uterina se achava incompletamente, ou mesmo não desenvolvida, por ação do hormonio estrogênico. Empregava a progesterona na dose de 10 mg durante 5 dias, no período postmenstrual, em mulheres perfeitamente normais. Após um intervalo de 2 a 3 dias ocorria uma hemorragia menstrual, durando de 2 a 6 dias. O início das injeções era no 7.º, 8.º ou 9.º dia do ciclo. São as seguinets suas palavras: "desde que a mucosa uterina, nesse período, não mostra ainda secreção (ou somente inicio desse estádio) a hemorragia pode ser considerada como uma pseudo-menstruação. Conclue-se disto que para provocar menstruação por meio da progesterona, a condição requerida não é uma mucosa progestacional, mas uma mucosa parcialmente proliferada".

Ora, até então admitia-se que a progesterona era capaz de determinar uma hemorragia menstrual somente quando o hormonio estrogênico tivesse agido sobre a mucosa uterina ocasionando sua proliferação. Os trabalhos de Zondek mostraram, entretanto, que é possivel provocar menstruação durante o periodo intermenstrual, fenômeno esse que aparece em uma mucosa incompletamente proliferada. O endométrio é muito delgado e contem apenas poucas glândulas do tipo postmenstrual. A presença de um certo grau de produção estrogênica é, entretanto, uma condição exigida para o aparecimento da hemorragia menstrual. Por esse motivo, nas amenorréias primarias, ou nas secundarias de longa duração, a administração de apenas a progesterona não surte resultado. Com a progesterona consegue-se na maioria das vezes, apenas um fluxo menstrual. Em alguns dos casos de Zondek apareceram hemorragias cíclicas após o tratamento, mas isso não é o comum. De nossas pacientes tivemos 2 amenorréias de 3 meses, que apresentaram ciclos normais sem qualquer tratamento, durante 3 e 4 meses respectivamente. De um modo geral, entretanto, os resultados permanentes não são satisfatorios.

Cimberg (3) publicou, recentemente, um caso de amenorréia, no qual o tratamento determineu a cura. tendo sido acompanhado durante 2 anos.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Os autores trataram segundo o esquema estabelecido por Zondek, 14 casos de amenorréia secundaria e 3 casos de amenorréia primaria. Na amenorréia secundaria obtiveram um fluxo menstrual em 84,6% dos casos, sobrevindo a menstruação de 24 a 96 horas após a última injeção.

Na amenorréia primaria obtiveram de 3 casos, apenas um resultado positivo. Os resultados permanentes não são satisfatorios, isto é, não foi possivel. senão em 2 casos, manter a continuidade dos ciclos somente com o tratamento inicial.

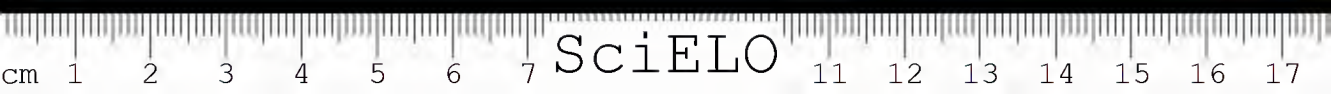
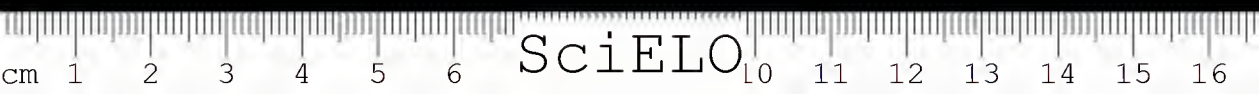
## ABSTRACT

Fourteen cases of secondary and three of primary amenorrhea were treated by progesterone or estrone plus progesterone according to Zondek's schedule Menstrual flow was induced 24 to 96 hours after the last injection in 11 cases of the first group and in one patient with primary amenorrhea. Permanent results were not relevant: except in two cases a cyclical bleeding was not reestablished.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Zondek, B.* — Clinical and Experimental Investigation on the genital functions and their hormonal regulation. 1941.
2. *Schroder, R.* — Arch. f. Gynäk. **10**:1.1913. Apud. Mazer & Israel — Diag. and treat. of menst. disorders and ster.
3. *Cinberg, B.* — The J. of Clin. Endocrinology **3**(3):167.1943.

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 1.º de outubro de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

612.44

# CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO EXOFTALMO

POR

A. MARCONDES SILVA

A presença de exoftalmo em grande número de casos de hiperfunção da glândula tiroide fez com que se pensasse que tal perturbação fosse causada pela tireoglobulina.

Todavia, essa hipótese não poude ser comprovada na experimentação animal e era mesmo frequentemente contrariada na especie humana. Assim, em trabalhos feitos por diversos pesquisadores, com o fim de elucidar a fisiologia da glândula tiroide, e que consistiam na administração de grandes doses de tiroide dessecada a animais de laboratorio, não se conseguiu determinar o aparecimento de exoftalmo, embora o animal exibisse um quadro franco de hipertiroidismo. Por outro lado, é frequente encontrar-se casos de franca tireotoxicóse que não apresentam esse sinal, sendo os mesmos calculados em cerca de 30 a 40% do total de casos de bocio exoftálmico (1).

O achado de Gley, em 1910, tornou muito duvidoso que a tireoglobulina fosse a determinante causal do exoftalmo; este autor verificou que a tiroidectomia em coelhos infantis determinava o aparecimento da protusão ocular (2). Em acordo com essa verificação, havia ainda o fato de, na especie humana, em casos de hipertiroidismo, o exoftalmo, às vezes, aparecer pela primeira vez ou então, quando presente, agravar-se, após a tiroidectomia subtotal, mesmo que o metabolismo basal fosse baixo (3).

A hipófise exerce uma ação estimulante sobre a tiroide (4) e isso fez com que varios pesquisadores procurassem estudar o hipertiroidismo e a atividade de certos extratos hipofisarios, atravez da ação estimulante que os mesmos determinavam na tiroide de um animal que fosse sensivel a esses extratos. Esses estudos trouxeram alguma luz sobre a causa do exoftalmo. Assim, Schockaert, em 1931, estudando os efeitos de injeções de extrato de hipófise anterior em patos infantis, verificou que as mesmas alem de exercerem a ação estimulante sobre a tiroide, produziam tambem exoftalmo (5). Loeb e Friedmann verificaram o mesmo fato na cobaia (6).

Foi, todavia, Marine e Rosen que tiveram o mérito de demonstrar que o exoftalmo era devido a algum hormonio hipofisario. Esses autores demonstraram que as injeções de extrato hipofisario anterior, produziam exoftalmo tanto em cobaias intactas, como nas tiroidectomizadas (7). Desde então passou-se a admitir que a hipófise podia ser responsavel pelo aparecimento de exoftalmo na doença de Basedow. Dentre os hormonios hipofisarios, foi possivel demonstrar que é a fração tireotrópica que tem essa atividade.

A pesquisa do hormonio tireotrópico é comumente feita no sangue e na urina e muitos são os processos que já se conhecem para determinar a sua presença. Dentre esses processos, o mais comumente empregado é o classico test de Aron, baseado na reação da tiroide da cobaia. Na Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan essa pesquisa tem sido feita na urina, usando-se pintos nos primeiros dias de vida, como foi proposto por Smelzer (8). A presença de hormonio se verifica pela sua ação sobre a tiroide desses animais, que se mostra aumentada de volume, com maior peso, e com um quadro tipico de hiperfunção: aumento da altura das células de revestimento dos folículos, presença de algumas mitoses e sinais de proliferação que determinam um espessamento do epitelio, com consequente diminuição da cavidade folicular, empobrecimento de coloide que se mostra, quando presente, vacuolado e fracamente corado, denotando a sua formação recente. E' o que se pode ver na Fig. 2, comparando-a com a Fig. 1 em que está o quadro histológico normal da tiroide do controle. Este resultado constitue um test positivo. Na ausencia de modificações o test é negativo.

Muitos autores já pesquisaram a presença do hormonio tireotrópico na urina e no sangue, em casos não só de afeções da tiroide, como de outras moléstias. De um modo geral, tem-se encontrado resultados variaveis no hipotiroidismo, havendo casos, mais numerosos, em que havia grande quantidade de hormonio tireotrópico e outros em que isso não acontecia, sendo o test negativo. No hipertiroidismo os resultados são, entretanto, mais concordantes, havendo a grande maioria dos autores demonstrado fraca ou ausencia de atividade tireotrópica na urina e no sangue desses pacientes. Bodart e Fellinger (9), assim como outros autores, demonstraram que essa atividade tireotrópica, comumente baixa, de pacientes hipertiroidianos, se eleva rápida e pronunciadamente após a tiroidectomia subtotal.

O motivo desta publicação é relatarmos um fato interessante que se passou com um de nossos pacientes e que alem de estar em acordo com os trabalhos até agora citados, reforça a teoria por eles suscitada de que é o hormonio tireotrópico o responsavel pelo aparecimento de exoftalmo na doença de Basedow.

Trata-se de um paciente portador de bocio difuso tóxico que nos procurou no inicio de sua doença. Em linhas gerais o que constatamos nessa ocasião foi

o seguinte: T. F. O., masculino, branco, 26 anos, casado, brasileiro, apresentando há três meses nervosismo, cansaço facil, bocio pequeno, emagrecimento acentuado, tremor, palpitações, pele úmida, polifagia, polidipsia e poliuria. Um tratamento esporádico e de curta duração com iodo não produziu melhoras, mas a interrupção do mesmo agravou o seu estado. Ao exame clinico encontramos um quadro tipico de hipertiroidismo, com aumento moderado e global da glândula tiroide, pulso com 120 batimentos, peso de 43.000 g e ausencia de exoftalmo

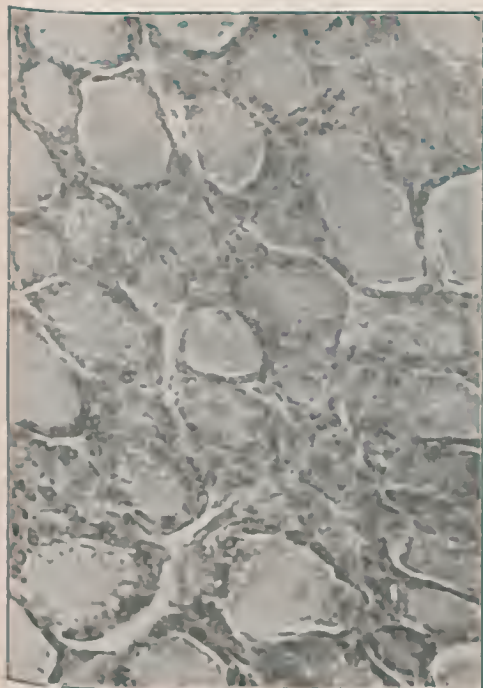



FIG. 1

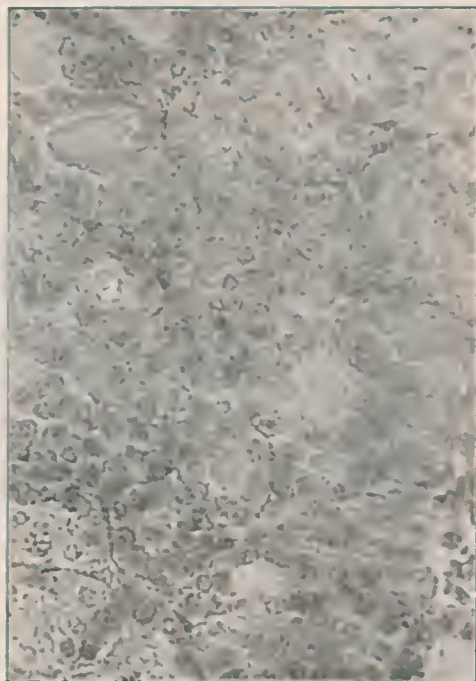



FIG. 2

(Fig. 3). O desvio percentual do indice do metabolismo basal era de + 48,6%; a taxa de colesterol no soro era de 106 mg %: havia creatinuria e a pesquisa de hormonio tireotrópico na urina revelou-se negativa.

Foi instituido um tratamento pelo lugol, em doses adequadas, para se observar o máximo de melhora que o mesmo poderia determinar. Esse tratamento foi seguido durante quatro meses, apresentando o paciente progressivamente sempre melhoras: nessa ocasião o indice do metabolismo basal era de +12,6%, o pulso tinha 84 batimentos por minuto e o peso era de 52.000 g. Logo a seguir, entretanto, estando o paciente nessas condições ótimas, começou a desenvolver-se um exoftalmo (Fig. 4).

Nova pesquisa da atividade tireotrópica na urina revelou um test positivo (Figs. 1 e 2). O índice do metabolismo basal determinado nessa ocasião revelou um desvio de —4,7% (padrão de Boothby-Sandiford), a taxa de colesterol no soro era de 160 mg %, o pulso apresentava 80 batimentos por minuto e o peso era de 52.900 g.

Como se vê, em um quadro de hipertiroidismo perfeitamente equilibrado, atravez da ação benéfica do iodo em doses adequadas, equivalente, portanto, ao estado de um paciente hipertiroidiano submetido a tiroidectomia subtotal bem sucedida, veiu a aparecer um exoftalmo concomitantemente com um aumento da atividade tireotrópica na urina, indicando uma maior quantidade de hormonio tireotrópico.

Fig. 3

Fig. 4

Pensamos que esse achado reforça ainda mais a teoria de que é o hormonio tireotrópico responsavel pelo exoftalmo na doença de Basedow. A ausencia do mesmo no inicio da doença, no caso em apreço, talvez seja devida a que o hormonio tireotrópico, em excesso, estivesse sendo usado totalmente na glândula tiroide com o fim de estimula-la e que, em virtude da ação inibidora do iodo sobre essa glândula, o h. tireotrópico inundasse o organismo, indo então produzir exoftalmo e aparecer na urina.

## RESUMO

É apresentado em resumo um caso de bocio tóxico sem exoftalmo, em que, concomitantemente ao aparecimento de exoftalmo, se poude demonstrar a existencia de atividade tireotrópica na urina que anteriormente era negativa para o hormonio tireotrópico. O paciente achava-se nessa ocasião em tratamento pelo iodo e sem sinais de tireotoxicose. E' admitido que esse fato interessante reforce a

teoria de que o hormonio tireotrópico seja o responsavel pelo aparecimento do exoftalmo na doença de Basedow.

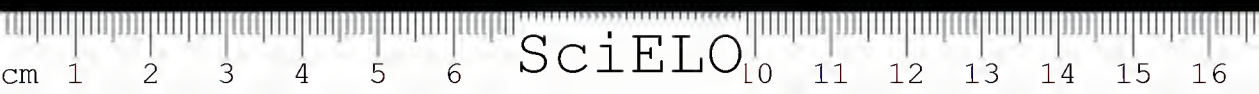
## ABSTRACT

A brief report is given on a case of toxic goiter without exophthalmos, in which simultaneously with the appearance of exophthalmos the existence of thyrotropic activity in urine could be shown, which previously was negative for the thyrotropic hormone. The patient at this occasion was under treatment with iodine with no signs of hyperthyrodism.

It is suggested that this interesting finding should emphasize the theory on the thyrotropic hormone being responsible for the appearance of exophthalmos in Basedow's disease.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Thompson, W. O.* — J. A. M. A. 11:441. 1941.
2. *Gley, E.* — C. R. Soc. Biol. 68:858. 1910.
3. *Ginsborg, S.* — Ann. Internal Med. 13:424. 1939.
4. *Loeb, L. & Bassett, R. B.* — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 26:860. 1929
5. *Schockaert, J. A.* — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 29:306. 1931.
6. *Loeb, L. & Friedmann, H.* — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 29:648. 1932.
7. *Marine, D. & Rosen, S. H.* — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 30:901. 1933.
8. *Smelzer, G. K.* — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 37:388. 1937.
9. Bodart, F. & Fellinger, K. — Wien. klin. Wschr., citado em Collip, J. B. — J. A. M. A. 115:2073. 1940.

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 5 de outubro de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

614.478

# VACINAÇÃO T. A. B.

## 1. Formação de aglutininas no homem resultante do emprego de vacina formolada

J. S. de MACEDO LEME & L. NOGUEIRA CARRIJO

Para o preparo da vacina T. A. B. do Instituto Butantan (produto 285) são utilizadas suspensões bacterianas mortas e desintoxicadas pela ação do formol a 0.5%, durante 30 dias, à temperatura de 37°C. Como preservativo é usado o ácido fênico a 0.25%.

Trata-se, portanto, de uma vacina T. A. B. formolada. Ora, o comportamento desse tipo de vacinas, quanto à capacidade de induzir a produção de aglutininas nos individuos vacinados, nunca foi investigado de maneira satisfatoria. Alivisatos (1), que primeiro a empregou em larga escala, obteve bons títulos aglutinantes. Contudo, as aglutinações por ele efetuadas só nos dão idéia da formação de aglutinina "H" (flagelar), visto serem feitas pelo método quantitativo. A análise qualitativa das aglutininas (2) ainda não havia entrado na prática corrente. Na mesma falha incidem as aglutinações realizadas entre nós e citadas por Piza (3). Outros pesquisadores que cuidaram do assunto não elucidaram esse ponto (4).

Diante desses fatos resolvemos experimentar esse nosso produto, sob tal ponto de vista, em um número suficiente de individuos. O assunto é de interesse no momento, principalmente devido à revisão que as diferentes técnicas para o preparo das vacinas T. A. B. têm sofrido ultimamente. Essa revisão é consequente à descoberta, por parte de Felix e colaboradores (5), de um novo componente antigênico do B. tífico, — o antígeno "Vi", de grande importancia na ação patogênica dessa bacteria, o que torna, si não indispensavel, pelo menos aconselhavel a sua presença na vacina preventiva.

### MATERIAL E MÉTODO

A vacinação foi feita em alienados da Colonia Adhemar de Barros do Hospicio do Juquerí. As doses empregadas foram as mesmas constantes da bula do produto, ou seja: 0.5 $cm^3$, 1.0 $cm^3$ e 1.5 $cm^3$, intervaladas de uma semana e por via subcutanea. A pesquisa de aglutininas foi feita no soro de cada individuo, obtido imediatamente antes da primeira e uma semana após a terceira dose.

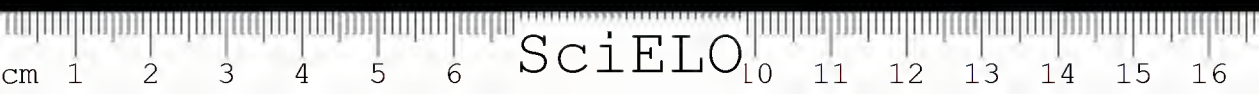
As aglutininas pesquisadas foram as correspondentes aos antígenos somático termoestavel (aglutinina "O") e flagelar (aglutinina "H"). A correspondente ao antígeno somático termolabil (aglutinina "Vi") só foi pesquisada em pouco mais de uma dezena de casos, pela técnica de Felix (6). Não havendo encontrado nenhum caso positivo ao título de 1:10, tanto antes quanto após a vacinação, e sendo sabido, de antemão, que o antígeno "Vi" não pode resistir à técnica de preparo de uma vacina formolada-fenolada, em virtude de sua extrema labilidade (7), resolvemos suspender essa verificação.

Os antígenos destinados à reação foram preparados segundo as normas traçadas por Gardner e Felix, por ocasião do 2.º Congresso Internacional de Microbiologia, realizado em Londres, em Julho de 1936 (8), às quais tambem obedeceram todos os demais cuidados de ordem técnica adotados neste trabalho. Para o antígeno "O" preferimos o emprego de suspensões alcoólicas, feitas com a amostra 0 901, e, para o antígeno flagelar, suspensões formoladas da amostra H 901. Estandardização por nefelometria, dando para a diluição final das reações uma concentração de cerca de 450 x $10^6$ bacterias por $cm^3$.

Para a incubação dos tubos de reação preferimos a estufa a 37°C, por trabalharmos com soros em sua totalidade hemolisados, evitando, dessa forma, as possiveis pseudo-aglutinações, atribuidas à redução da hemoglobina, quando se opera em banho-maria a 50°C ou mais. As leituras foram feitas, para a aglutinação "H", dentro dos dez minutos seguintes a uma permanencia de duas horas na estufa, e, para a aglutinação "O", após 20-24 h de incubação, dentro da primeira hora da retirada dos tubos da estufa. Foram considerados resultados positivos, para a aglutinação "H", a última diluição visivel a olho nú, e, para a aglutinação "O", a última visivel com o auxilio de uma pequena lente.

Alem da adoção de técnicas padrões, seria de desejar, para que os nossos resultados mais se aproximassem de um criterio rigoroso de uniformidade internacional, o emprego das suspensões padrões distribuidas pelo "Standard Laboratory" do "Medical Research Council", de Londres (9). Impossibilitados de tal cousa em virtude da guerra, procuramos, ao menos, garantir um máximo de uniformidade em nossos proprios resultados, nesta e em outras experiencias, em andamento ou projetadas. Visando tal objetivo preparamos, em coelho, dois soros especificos, um anti-O e outro anti-H tipo especifico. Esses soros foram titulados rigorosamente pela primeira partida de antígenos por nós preparada. Alem de servirem para aferir aos antígenos, mensalmente, servirão, tambem, para padronizar futuras partidas dos mesmos.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos, resultantes da vacinação de 111 individuos, estão resumidos no quadro No. 1.

Quadro I

TITULO DE AGLUTININAS "O" E "H" ANTES E DEPOIS DO EMPREGO DO PRODUTO 285 PELA VIA SUBCUTANEA

| Resultado | Diluição | Aglutinina "O" | | | | Aglutinina "H" | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Antes | | Depois | | Antes | | Depois | |
| | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Negativo | 1:10 | 75 | 67,56 | 73 | 65,76 | 88 | 79,27 | 10 | 9,00 |
| Positivo | 1:10 | 17 | 15,32 | 17 | 15,32 | 8 | 7,23 | 2 | 1,80 |
| " | 1:20 | 18 | 16,22 | 20 | 18,02 | 7 | 6,30 | 17 | 15,31 |
| " | 1:40 | 1 | 0,90 | 1 | 0,90 | 7 | 6,30 | 27 | 24,32 |
| " | 1:80 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 1 | 0,90 | 24 | 21,62 |
| " | 1:160 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 13 | 11,72 |
| " | 1:320 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 11 | 9,90 |
| " | 1:640 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 2 | 1,80 |
| " | 1:1280 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 2 | 1,80 |
| " | 1:2560 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 2 | 1,80 |
| " | 1:5120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 1 | 0,90 |
| | | 111 | | 111 | | 111 | | 111 | |

A analise dos dados obtidos nos mostra que o teor de aglutinina "O" pouco foi modificado pela vacinação. Já o mesmo não ocorre em relação à aglutina "H", cujo título se mostra bastante alterado após a 3.ª dose da vacina. Em alguns casos atingiu mesmo a títulos elevados, superiores a 1:1 000 (cinco casos).

Considerando as grandes variações individuais na produção de anticorpos, as quais motivam uma grande discrepancia nos títulos obtidos para diferentes individuos, que tenham recebido o mesmo antígeno, nas mesmas doses e em condições idênticas, Felix (10) propõe que se leve em consideração apenas o que ele denomina como "significative increase", e que consiste num aumento de pelo menos o dobro do título anterior à vacinação. Levando em conta esse criterio obteremos os resultados estampados no quadro 2.

Quadro II

| Anticorpo | No. de vacinados | No. c/ aumento 100% | Resultado % |
|---|---|---|---|
| Aglutinina "O" | 111 | 2 | 1,80 |
| Aglutinina "H" | 111 | 97 | 87,38 |

Verifica-se, desse modo, que mesmo se adotando um criterio favoravel para avaliar-se o aumento de anticorpos resultantes da vacinação, a produção de aglutininas "O" foi praticamente nula. Há varios resultados semelhantes na literatura sobre o assunto, obtidos por varios outros pesquisadores (11), com di-

ferentes tipos de vacina. Tais resultados foram, entretanto, refutados (12), e, mesmo aqueles que os obtiveram, chegaram à conclusão, posteriormente, de que uma boa vacina deve ocasionar, no organismo vacinado, um aumento da aglutinina "O" (10 e 13).

E' de supor-se, portanto, a existencia de uma causa qualquer determinante de nosso resultado, absolutamente inesperado. Talvez a longa conservação do produto, antes de seu emprego, ocasionando uma alteração das propriedades aglutinogênicas do antígeno "O". Talvez uma ação, no mesmo sentido, do ácido fênico utilizado como preservativo (13). E talvez ambas as causas.

Podemos afirmar, contudo, não ser tal resultado devido a um ocasional emprego de amostras rugosas no preparo do produto (14), porquanto existe, de parte da Seção, um maximo rigor em relação a esse ponto.

Pretendemos, em futuro proximo, investigar melhor essa questão.

## RESUMO

Os A. A. experimentaram a vacina T. A. B. do Instituto Butantan (produto 285) em 111 alienados do Hospital do Juqueri. Tendo sido verificado, no soro dos vacinados, um aumento insignificante da aglutinina "O", sugerem uma explicação que se propõem verificar.

## ABSTRACT

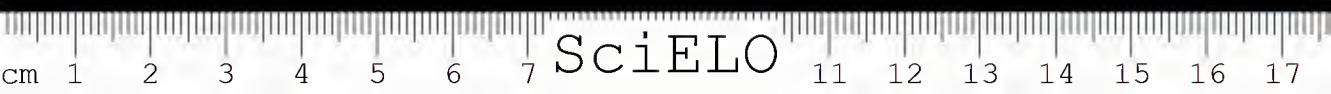
The authors examined the T. A. B. vaccine of the Instituto Butantan (product Nr. 285) with 111 mental cases at the "Hospital do Juquerí". As they were able to state only an insignificant increase of the agglutinine "O" in the serum of the vaccinated, they suggest an explanation, which they intend to give.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Alivisatos, G. P.* — Centralbl. f. Bakt., etc., I. Originale 95(1):120.1925.
2. *Felix, A.* — J. Immunol. 9:115.1924.
   *Felix, A.* — Lancet 1:505.1930.
   *Felix, A. & Olitzki, L.* — J. Immunol. 11:31.1926.
   — J. of Hyg. 28:55.1928/29.
3. *Piza, J. de Toledo* — An. Paul. Med. Cir. 18(10):177.1927.
4. *Pattané, G.* — Boll. Sez. ital. Soc. inter. microb. 3(10):678.1931.
   *Mennonna, G.* — Boll. Ist. Sierot. Milanese 11:614.1932.
   *Wherry, W. B. & Bowen, J. A.* — J. Infect. Dis. 37:520.1925.
   *Costa, S., Boyer, L. & Placidi, L.* — C. R. S. Biol. 92:1053.1925.
   *Durand, P.* — C. R. S. Biol. 92:159.1925.
   *Sabena, V.* — Boll. Ist. Sierot. Milanese 12(15):391.1933.

5. *Felix, A. & Pitt, R. M.* — J. Path. Bact. **38**:409.1934.
— Lancet **2**:186.1934.
— J. of Hyg. **35**:428.1935.
*Felix, A.; Pitt, R. M. & Bhatnagar, S. S.* — Brit. J. Exp. Path. **15**:346.1934.
6. *Felix, A.* — J. Hyg. **38**:750.1938.
7. *Felix, A. & Bhatnagar, S. S.* — British J. Exp. Path. **16**:422.1935.
8. *Gardner, A. D. & Felix, A.* — Bull. Org. Hyg. Soc. des Nations **6**:235.1937.
9. *Rodrigues, P. M.* — Rev. Ass. Paul. Med. **18**(4):29.1941.
10. *Felix, A.; Rainsford, S. G & Stokes, E. J.* — Brit. Med. J. **1**:435.1941.
11. *Felix,.A.* — J. Immunol. **9**:115.1924.
— J. Hyg. **28**:418.1929.
— Lancet **1**:505.1930.
*Stuart, G. & Krikorian, K. S.* — J. Hyg. **28**:105.1928.
*Pijper, A.* — J. Hyg. **29**:380.1930.
12. *Gardner, A. D.* — J. Hyg. **28**:376.1929.
— Lancet **1**:427.1930.
*Mudd, S.* — J. Immunol. **23**:81.1932.
*Smith, A.* — J. Hyg. **32**:143.1932.
*Willie, J.* — J. Hyg. **32**:375.1932.
*Horgan, E. S.* — J. Hyg. **32**:523.192.
*Giglioli, G.* — J. Hyg. **33**:387.1933.
*Dennis, E. W. & Berberian, D. A.* — Amer. J. Hyg. **20**:469.1934.
*Grasset, E.* — Presse Med. **47**(95/96):1653.1939.
*Dulaney, A. D.; Wickle, W. T. & Trigg, R.* — Amer. J. Publ. Health **22**:1033.1932.
13. *Stuart, G. & Krikorian, K. S.* — Lancet **2**:644.1934.

(Trabalho da Secção de Soros e Vacinas do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 19 de agosto de 1943 dado à publicidade em dezembro de 1943).

614.478

# VACINAÇÃO T. A. B.

## 2. Vacina formolada pela via intradermica.

J. S. de MACEDO LEME & L. NOGUEIRA CARRIJO

A via intradermica para a vacinação preventiva contra a febre tifoide é defendida por Tuft (1). Seu uso, si realmente forem melhores as reações imunogênicas dele decorrente, ainda é acrescido das vantagens economicas, para a vacinação em massa, provenientes do emprego de doses bem menores do produto, alem das vantagens decorrentes de sua maior aceitação, por serem mínimas as reações gerais ou locais que provocam.

Em experiencias destinadas a comprovar as vantagens dessa via, Perry (2) obteve bons títulos "O", tanto por ela como pela subcutanea. Não houve, portanto, em seus resultados, vantagens quanto ao valor aglutinogênico.

Aproveitando a oportunidade em que procuravamos verificar o valor de nossa vacina formolada, quanto à sua capacidade de provocar a produção de aglutininas "O" e "H" nos indivíduos vacinados, deliberamos experimentá-la, tambem, pela via intradermica.

### MATERIAL E MÉTODO

A vacina empregada nesta experiencia provinha da mesma partida que a usada por via subcutanea, em trabalho anterior (3), variando apenas quanto às doses. Estas, igualmente em número de três, foram de 0.10 $cm^3$, 0.15 $cm^3$ e 0.20 $cm^3$, respectivamente, sendo respeitado o mesmo interregno de uma semana entre elas. A pesquisa das aglutininas nos soros foi feita, tambem, imediatamente antes da primeira inoculação e uma semana após a terceira.

Os antígenos usados para as aglutinações tambem provinham da mesma partida anterior e as reações foram feitas obedecendo ao mesmo criterio seguido para a via subcutanea. O material humano nos foi, igualmente proporcionado pela direção do Hospital do Juquerí.

### RESULTADOS

A vacinação foi efetuada em 164 internos da Colonia Adhemar de Barros, daquele hospicio. Os resultados conseguidos estão resumidos no quadro No. 1.

QUADRO I

| TITULOS AGLUTINANTES OBTIDOS ANTES E APÓS VACINAÇÃO PELA VIA INTRADERMICA COM O PRODUTO 285 | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Resultado | Diluição | Aglutinina "O" | | | | Aglutinina "H" | | | |
| | | Antes | | Depois | | Antes | | Depois | |
| | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Negativo | 1:10 | 93 | 56,70 | 88 | 53.65 | 125 | 76,21 | 35 | 21,34 |
| Positivo | 1:10 | 27 | 16,46 | 20 | 12,19 | 15 | 9,14 | 3 | 1.82 |
| " | 1:20 | 37 | 22,55 | 43 | 26,22 | 16 | 9,75 | 35 | 21,34 |
| " | 1:40 | 6 | 3,65 | 11 | 6,70 | 8 | 4,90 | 48 | 29,26 |
| " | 1:80 | 1 | 0,60 | 1 | 0.60 | — | — | 18 | 10,97 |
| " | 1:160 | — | — | 1 | 0,60 | — | — | 11 | 6,70 |
| " | 1:320 | — | — | — | — | — | — | 6 | 3,65 |
| " | 1:640 | — | — | — | — | — | — | 4 | 2,43 |
| " | 1:1280 | — | — | — | — | — | — | 3 | 1.83 |
| " | 1:2560 | — | — | — | — | — | — | 1 | 0,60 |

Analisando-se os resultados obtidos verificamos que resultou, do emprego da via intradermica, tal como ocorrera com a via subcutanea, um aumento insignificante da aglutinina "O", em consequencia da vacinação.

Aplicando o criterio de Felix (4), ou seja, levando em conta apenas o aumento de pelo menos 100% do título aglutinante, constatamos relativa vantagem para a via intradermica, em relação à referida aglutinina, como se depreende do quadro No. 2.

QUADRO II

| Anticorpo Produzido | VIA SUBCUTANEA (3) | | | VIA INTRADERMICA | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | No. de casos | c/ aumento 100% | | No. de casos | c/ aumento 100% | |
| | | No. | % | | No. | % |
| Aglutinina "O" | 111 | 2 | 1.80 | 164 | 17 | 10.36 |
| Aglutinina "H" | 111 | 97 | 87.38 | 164 | 98 | 59.75 |

Enquanto pela via intradermica obtivemos 10.36% de casos com "significative increase" do anticorpo "O", pela subcutanea esse resultado não foi alem de 1.80%, para um total de 164 e 111 indivíduos vacinados, respectivamente.

Em relação à aglutinina "H" a vantagem foi para a via subcutanea, — 87.38% contra 59.75% para a intradermica. Esse resultado, contudo, não é de maior interesse, em virtude da nenhuma importancia desse anticorpo para a proteção do organismo (5).

Ainda se torna necessario ponderar que a relativa vantagem apresentada pela via intradermica, quanto à formação de aglutinina "O" pelo organismo vacinado, é despida de qualquer valor absoluto quanto à capacidade aglutinogênica do produto 285 em relação a esse anticorpo. Isso porque, ainda que a diferença entre ambas as vias haja sido notavel, a porcentagem de casos positivos para o conjunto dos vacinados continua insignificante.

## RESUMO

Os A. A. vacinaram 164 alienados do Hospital do Juquerí com o produto 285 (Vacina T. A. B.) do Instituto Butantan, pela via intradermica. Os resultados foram melhores que os obtidos anteriormente pela via subcutanea.

## ABSTRACT

The authors vaccinated 164 mental cases at the "Hospital do Juquerí" with the product No. 285 (T. A. B. vaccine) of the Instituto Butantan, by intradermic route. The results were better than those previously obtained by subcutaneous route.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Tuft, L.* — Amer. J. of Med. Sc. **199**:84.1940.
2. *Perry, R. M.* — Amer. J. of Hyg. **26**:388.1937.
3. *Leme, J. S. & Carrijo, L. N.* — Mem. Inst. But., **17**:000.1943.
4. *Felix, A.; Rainsford, S. G. & Stokes, E. J.* — Brit. Med. J. **1**:435.1941.
5. *Arkwright, J. A.* — J. Path. Bact. **30**:345.1927.
   *Felix, A. & Olitzki, L.* — J. Immunol. **11**:31.1926.
   *Shutze, H.* — Brit. J. Exp. Path. **11**:34.1930.
   *Denis, E. W. & Senekjian, H.* — Amer. J. Hyg. **26**:11.1937.
   *Greenwood, M.; Topley, W. W. C. & Wilson, J.* — J. Hyg. **31**:257 e 484.1931.

(Trabalho da Secção de Soros e Vacinas do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 19 de agosto de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

614.511

# NIVEL MEDIO DE AGLUTININAS TIFICAS EM SÃO PAULO

## Contribuição para o seu conhecimento

J. S. de MACEDO LEME & L. NOGUEIRA CARRIJO

A classica Reação de Widal, para o diagnóstico das febres tifóide e paratifóides, incide, tal como é geralmente praticada, em numerosas falhas. Estas decorrem, principalmente, da falta de uma padronização rigorosa das técnicas empregadas, dentro do criterio da análise qualitativa das aglutininas e do emprego de antígenos mortos (1). Alem dessas falhas de ordem técnica, outras há ligadas às condições epidemiológicas da localidade em que reside o doente, e à sua propria historia pregressa, no que diz respeito a uma possivel infeção ou vacinação anterior (2).

A vacinação preventiva atinge principalmente a grupos da população, tal como as classes armadas, em que é obrigatoria. As aglutininas resultantes dessa medida profilática perduram muito tempo, principalmente as flagelares (3), alterando o resultado da reação diagnóstica. Nesses casos, entretanto, bem como quando da ocorrencia anterior de uma infeção entérica, a anamnese é um guia seguro para o diagnóstico, auxiliada, si necessario, por R. de W. repetidas (curva de aglutininas).

Alem da ocorrencia de infeção ou vacinação anterior, ainda subsiste uma outra condição, estritamente local, que precisa ser considerada pelo analista para ser firmado um diagnóstico com uma única reação: — trata-se do nivel médio de aglutininas naturais, que pode variar, dentro de limites bem amplos, de uma região para outra, parecendo depender, essencialmente, da existencia ou não da infecção sob a forma endêmica.

As principais verificações anteriores sobre o assunto estão condensadas por Topley e Wilson (3).

Em relação à aglutinina "H" Rosher & Fielden (1922), em Londres, encontraram 3% de resultados positivos a 1:20 em 181 soros examinados. Em Manchester, Smith & col. (1930), encontraram 4.7% positivos para a mesma diluição, o que muito se aproxima do resultado londrino. Esses autores não dispunham de dados seguros sobre a existencia de vacinação anterior. Seus re-

sultados sao obtidos pela separação dos soros em dois grupos, pelo sexo dos individuos. Nos homens, em que a existencia de vacinação anterior é mais provavel, a porcentagem foi de 23.3%. Já em regiões assoladas endemicamente pela infecção os resultados foram bem outros: Giglioli (1933), na Guiana Inglesa, encontrou 24.6% positivos para a diluição de 1:20 e 8.3% em título igual ou superior a 1:80 num total de 350 soros. Alves (1936), na Rodesia do Sul, onde se deveria esperar porcentagem tambem elevada, obteve 5.1% positivos para a diluição de 1:50 e 3.8% para a de 1:125, em 530 soros examinados. Sua escala de diluição foi iniciada com título muito alto, não permitindo uma comparação perfeita com os outros resultados. Lewin (1934), na Africa do Sul, entre 442 soros, conseguiu 10.6% para 1:25 e 2.9% para 1:100.

A diferença, para mais, nas regiões onde a febre tifóide é endêmica, sugere a possibilidade de nas mesmas haver uma relativa frequencia de casos benignos da infecção, casos ambulatorios, que passam despercebidos, ou mesmo de infecção inaparente, asintomatica.

Quanto à aglutinina "O", os resultados são mais escassos porém mais concordes. Gardner & Stubington (1932), em Oxford, encontraram em 50 individuos não vacinados 38% de resultados positivos a 1:25 e 2% a 1:100. Giglioli, na Guiana, obteve 16.3% a 1:20 e 0.9% a 1:80. Horgan (1932), no Sudão Anglo Egipcio, encontrou 7.1% positivos a 1:25 em 70 soros. Lewin, na Africa do Sul, 45% a 1:25 e 4.5% a 1:100 em 442 soros. Alves, na Rodesia, 9.33% a 1:50 e 2.67% a 1:100 em 300 soros.

Em relação à aglutinina "O" a discrepancia é menor, como se depreende das estatísticas citadas, tanto em relação à sua frequencia quanto aos títulos obtidos.

Não se pode entretanto chegar a conclusões definitivas em virtude não só da escassez dos dados até agora obtidos como da disparidade das técnicas empregadas pelos diferentes pesquisadores. E' preciso convir, contudo, quanto ao interesse desse conhecimento, pois um título que pode ser considerado positivo em um aregião, em outra pode estar dentro do nivel medio normal. Mas não se deve inferir desse fato que com tal conhecimento se possa determinar um título arbitrario... "com o qual, ou acima do qual, uma aglutinação possa ser considerada como *positiva* no sentido diagnóstico, e, abaixo do qual possa ser considerada como *negativa*. Um título observado para qualquer um desses organismos (T. A. B.) constitue um elemento de prova que deve ser considerado em relação com todas as outras provas disponiveis" (3).

A verificação por nós realizada está limitada ao B. tifico, por ser o mais importante do grupo, e, por outro lado, apenas às aglutininas "O" e "H", por serem as únicas realmente de interesse diagnóstico.

## MATERIAL E MÉTODO

Nesta pesquisa e em outras da mesma natureza, ora em andamento, temos utilizado como antigeno "H" suspensões formoladas e como antigeno "O" suspensões alcoolicas das amostras H 901 e O 901, respectivamente. Todos os detalhes das técnicas empregadas já foram enumerados anteriormente (4). Quanto ao material humano, 33 dos soros por nós examinados pertenciam a individuos residentes em diferentes bairros da capital, dos quais 32 não apresentavam passado tifico ou vacinação recente. Apenas um apresentava historia de contagio e vacinação há apenas um ano. Os 288 soros restantes provinham de psicopatas, internados no Hospital do Juqueri, dos quais não se podia obter com rigor, nenhum dado referente à vacinação ou infeção anteriores ao internamento.

## RESULTADOS

Os resultados encontrados estão resumidos no seguinte quadro:

TITULOS DE AGLUTININAS TIFICAS EM INDIVIDUOS POSSIVELMENTE NORMAIS

| Resultado | Diluição | AGLUTININAS "H" | | AGLUTININAS "O" | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | No. | % | No. | % |
| Negativo | 1:10 | 253 | 78,81 | 195 | 60,74 |
| Positivo | 1:10 | 25 | 7,78 | 51 | 15,88 |
| " | 1:20 | 25 | 7,78 | 60 | 18,69 |
| " | 1:40 | 17 | 5,29 | 14 | 4,36 |
| " | 1:80 | 1 | 0,34 | 1 | 0,34 |
| | | 321 | | 321 | |

Analisando os resultados obtidos verifica-se uma porcentagem quasi nula de aglutinações positivas a 1:80, para ambas as aglutininas (0.34%). Em baixa diluição (1:20) já a porcentagem de casos positivos foi alta, alcançando 18,69% para a aglutinina "O" e 7,78% para a "H". Em diluição intermediaria (1:40), ainda que o nivel da positividade fosse menor, não passando de 4,36% e 5,29%, respectivamente, para aqueles dois anticórpos, não deixa de ser elevado para o caso de individuos possivelmente normais.

Comparando com os resultados encontrados por outros autores, constata-se que a porcentagem por nós obtida, para a diluição de 1:20, está perfeitamente de acordo com a nossa situação de região onde a febre tifóide é endêmica, porquanto como já foi visto, nessas regiões é relativamente alto o número de casos positivos para títulos baixos.

E' preciso salientar, contudo, que em relação a títulos elevados, iguais ou superiores a 1:80, os nossos resultados estão em desacordo com os obtidos em outras regiões, de condições epidemiológicas mais ou menos idênticas. A nossa porcentagem foi bem inferior. Contudo, temos de ponderar que a obtivemos em individuos internados, em sua totalidade, em um hospital, estando, desse modo, segregados da coletividade local, da qual nem sempre procedem, enquanto os dados conseguidos por outros autores o foram em individuos em condições comuns de vida, plenamente integrados no ambiente endêmico.

Esperamos conseguir, oportunamente, realizar outras verificações em agrupamentos diferentes de nossa população, de maneira a poder, de seu conjunto, formar uma idéia mais aproximada dos títulos limites, para o nosso meio, dentro dos quais se possa esperar aglutinação positiva em individuos considerados normais.


## RESUMO

1.º) Foram pesquisadas as aglutininas somaticas (O) e flagelares (H) para o B. tífico em 321 individuos, sem passado conhecido de vacinação T. A. B. ou de infecção tífica.

2.º) A porcentagem de resultados positivos, para baixas diluições (1:20), foi de 18.7% (60 casos) para a aglutinina "O" e de 7.8% (25 casos) para a "H". Esse resultado está mais ou menos de acordo com o de outros autores, que trabalharam em regiões onde a febre tifóide tambem é endêmica como entre nós.

3.º) Há divergencia, entretanto, quanto a títulos mais altos, iguais ou superiores a 1:80. Nossa porcentagem, nesses casos, foi muito baixa (1 caso ou 3.34% para ambas as aglutininas), talvez por trabalharmos com individuos hospitalizados, segregados, portanto, do ambiente endêmico local.



## ABSTRACT

1.º) Sera from 321 people, living in São Paulo (Brazil), having negative histories of previous enteric infection or T. A. B. inoculation have been analysed for agglutinins for the H and O antigens of *B. typhosus*.

2.º) Sixty (18.7%) and twenty five (7.8%) of these sera contained agglutinins respectively for the O and the H antigen in dilution of 1:20. These results are in fairly good agreement with numbers arrived at by other workers in regions where typhoid fever prevails endemically as it is the case in San Paulo.

3.º) There is disagreement, however, between our data and the ones met with in the literature when high titers (1/80 or above) of agglutination are considered. Our percentage of positive results, so far as these titers are concerned, was very low (only one case, i. é. 0.34% for both agglutinins), whereas other workers have arrived at much higher percentages.

The divergence may possibly be accounted for by the fact that all our patients were hospitalized people, living therefore for a somewhat long period quite segregated from the local endemical enviroment.

## BIBLIOGRAFIA


1. *Felix, A. & Gardner, A. D.* — Bull. Org. Hyg. *6*(2):235.1937.
2. *Rodrigues, P. M.* — Rev. Ass. Paul. Med. *18*(4):29.1941.
3. *Topley, W. W. C. & Wilson, G. S.* — The Principles of Bacteriology and Immunity. Baltimore. 1938.
4. *Leme, J. S. M. & Carrijo, L. N.* — Memorias do Instituto Butantan *17*: .1943.


(Trabalho da Secção de Seros e Vacinas do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 26 de agosto de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

616.01

# INCIDENCIA DE BACTERIAS DO GÊNERO *SALMONELLA* EM RATOS DA CIDADE DE SÃO PAULO

POR

LUCAS DE ASSUMPÇÃO & JOSÉ CARLOS RIBAS

Não é nova a observação de que os ratos possam ser incriminados como veículos na transmissão de bacterias causadoras de infeções alimentares.

Nestes últimos trinta anos a literatura nos apresenta um grande número de infeções alimentares e algumas em formas epidêmicas graves, das quais têm sido isoladas salmonelas tanto dos ratos suspeitos como das fezes dos doentes. De maior valor, contudo, são os trabalhos dos últimos vinte anos.

William G. Savage e P. Bruce White (1) aconselham examinar os ratos como causadores de intoxicações alimentares. Em 96 examinados isolaram salmonelas de seis deles, sendo todas elas identificadas ao *B. enteritidis* (*). As raças isoladas eram altamente virulentas e nada diferentes das encontradas nas infeções alimentares humanas. Discutindo o emprego de diversos "virus" para matar ratos ("Liverpool-virus", "Danyz's virus", "Ratin"), êles os julgam, muito naturalmente, perigosos: "We cannot regard as other than disquieting the usage of such bacterial viruses to kill rats which may end often to gain access to foods used for man".

Ole Salthe e Charles Krumwiede (2) estudaram uma epidemia de infecção alimentar, compreendendo 59 casos, produzida por um creme contaminado. O agente causador foi o *B. pestis caviae* (*B. typhimurium* — tipo "Mutton"), sendo os ratos incriminados. Julgam que o *B. pestis caviae* (*B. typhimurium* — tipo "Mutton"), *B. cholerae* e *B. enteritidis* são as três variedades mais encontradiças como agentes etiológicos nas infeções alimentares humanas.

Uma epidemia típica de intoxicação alimentar, provavelmente devida ao "virus de ratos", foi descrita por Kobb Spaldin Spray (3), atingindo 123 moços estudantes que se alimentavam regularmente no salão de jantar da West Virginia

(*) Neste resumo que estamos fazendo da literatura conservamos a nomenclatura das bacterias seguida pelos autores.

University e mais doze pessoas entre o pessoal da cozinha. O estudo epidemiológico feito revelou que o leite, ou o leite e um creme tinham sido os veículos da infecção. A contaminação foi devida a um virus comercial que tinha sido distribuido dezesseis dias antes com o fim de exterminar os ratos da cozinha, onde existiam em abundancia. As culturas isoladas dos doentes e do virus distribuido para matar os ratos mostraram-se todas idênticas, aproximando-se mais do *B. enteritidis.*

Meyer e Batchelder (4), fazendo estudo bacteriológico, anatômico e patológico de 88 ratos capturados para o controle da peste em Oakland e Alameda, California, verificaram a existencia entre êles de quatro doenças: septicemia hemorrágica (pasteurela), peste, tifoide dos ratos (por *B. enteritidis* e *B. paratyphosus B*) e pseudo-tuberculose (pelo *B. pseudotuberculosis rodentium* de Pfeiffer).

Meyer e Hatsumura (5) estudaram a incidencia de portadores de salmonelas nos ratos da cidade de São Francisco (California). Examinaram bacteriologicamente 775 ratos, tendo encontrado 58 infetados: 28 com *B. enteritidis* e 30 com *B. aertrycke.* Em 2% dos roedores infetados as salmonelas foram encontradas no tubo intestinal. É importante assinalar que, neste caso, os ratos provinham de diversos distritos da cidade, mas onde não havia sido distribuido virus, tratando-se, portanto, de infeção natural. A percentagem de ratos portadores de salmonelas foi aproximadamente de 6%.

Em Chicago, Elisabeth Verder (6) examinou 100 ratos selvagens de varias partes da cidade, encontrando dez bacterias pertencendo ao grupo paratifoide-enteritidis. Cinco ratos foram encontrados infetados com *B. enteritidis* nos exames feitos no fígado e baço, sendo isolado uma vez o *B. aertrycke.*

Entre nós, Amadeu Fialho e Genesio Pacheco (7), aproveitando material de necropsias realizadas em ratos suspeitos de peste, trazidos ao Laboratorio Bacteriológico do Departamento Nacional de Saude Pública do Rio de Janeiro, isolaram bacterias principalmente dos gêneros *Salmonella* (25%), *Pasteurella, Escherichia* e *Alcaligenes.* Estudando 13 amostras de salmonelas isoladas, verificaram alguma discrepancia na fermentação dos açucares, concluindo que — "os elementos fornecidos pela biologia da bacteria permitem identificá-la ao gênero *Salmonella,* embora sem possibilidade de especificação. Não foi possivel com estes elementos identificar as amostras isoladas com a chave dada, para esse fim, pela Sociedade de Bacteriologistas Americanos".

As provas imunológicas feitas pelos autores apenas revelaram que um soro total preparado com *S. enteritis* aglutinou poucas amostras; e provas de saturação simples demonstraram em outras amostras relações de parentesco antigênico com *Salmonella suipestifer.*

No Japão, Sadayoshi Hatta (8) achou que entre as salmonellas mais comumente isoladas dos casos de intoxicações alimentares se encontram *S. typhimu-*

*rium* e *S. enteritidis*. Examinou 1.075 ratos capturados em diversas partes da cidade de Tokio, pesquisando salmonelas nos seus orgãos internos, tendo isolado *S. enteritidis* em quatro. Ainda diz ter encontrado duas ou tres raças não pertencentes ao grupo *D* de salmonelas, tendo o estudo minucioso de uma delas revelado tratar-se de uma variedade de *S. bareilly*.

Em Washington, Bartram, Welch e Ostrolenk (9) fizeram experiencias, dando a ratos, *per os*, cultura em caldo de *S. enteritidis*, observando rápida e fatal infecção, tendo isolado das fezes o mesmo organismo. Assinalam, também, que alguns ficaram portadores, eliminando intermitentemente o organismo infetante durante o periodo de mais de dois meses da observação feita. Verificaram, ainda, em ratos com ausencia de salmonelas nas fezes e orgãos internos, alto título aglutinante do sangue, o que os levou a condenar os métodos que pretendiam apontar como vetores os ratos examinados pelo método sorológico.

Zozaya e Varela (10) dizem que com frequencia se verificam salmonelas na cidade do México. Examinaram 306 ratos brancos, mortos espontaneamente na criação do Instituto de Higiene do México, tendo encontrado 76 com salmonelas: 59 *S. typhimurium*; 16 *S. paratyphi A* e uma raça *S. choleraesuis*.

Em pesquisa recentemente feita em ratos de diversas cidades dos Estados Unidos por Welch, Ostrolenk e Bartram (11), a percentagem encontrada com salmonelas foi muito pequena, apenas 1.2%; mas esta pesquisa foi feita apenas em amostras de fezes de ratos. Apesar de terem encontrado tão baixa percentagem de salmonelas, ainda assim terminam a discussão do seu trabalho com as seguintes palavras: "since some few rats or mice may be infected with food poisoning organisms, they all must be considered potencially dangerous to the health, and every effort should be made to eliminate them from establishments were human food is prepared or stored".

Marchiavello (12), fazendo estudos no Nordeste brasileiro assinala a ocorrencia de três tipos de pseudo-tuberculose murina: a provocada pela *P. pseudo-tuberculosis*; a produzida pelo *Corynebacterium pseudo-tuberculosis murium* (*C. murium, C. kutscheri*) e ainda uma terceira acidentalmente ocasionada por *S. typhimurium* (*Bact. aertrycke*).

No trabalho de Marchiavello, na parte referente a salmonelas, não há referencia aos processos de identificação, apenas constando o seguinte: "Bacteriológica e sorologicamente os microorganismos em causa foram identificados como *S. typhimurium*".

## MÉTODO DE INVESTIGAÇÃO

Como no Instituto Butantan o Serviço de diagnóstico da peste continua fazendo pesquisa de *Pasteurella pestis* em ratos capturados em São Paulo, aproveitamos esse material para verificar a incidencia de salmonelas nesses roedores.

Foram examinados 950 ratos, na sua quasi totalidade *Mus rattus*, *Mus norvegicus* e *Mus alexandrinus*.

O material para as pesqusas foi geralmente baço e fígado, triturados e reunidos de 5 a 20 ratos, formando uma partida.

Cada partida era semeada em meio de enriquecimento (meio de Kauffmann) e deste, após 2 e 5 dias de estufa, passada para placas com meio proprio ao isolamento.

De oito partidas foram isoladas bacterias que no estudo das suas propriedades bioquímicas puderam ser identificadas como pertencentes ao gênero *Salmonella*.

Em seguida fizemos a identificação sorológica pelo esquema de Kauffmann-White.

## ESTUDO DAS BACTERIAS ISOLADAS

Os caracteres morfológicos, colorabilidade e propriedades bioquímicas das raças isoladas das oito partidas procederam de maneira idêntica.

I. *Caracteres morfológicos e colorabilidade.* Bacilos Gram-negativos e moveis.

II. *Propriedades bioquímicas.*

A) *Caracteres culturais.* Desenvolvimento abundante nos meios comuns de cultura, crescendo bem nos meios com verde brilhante.

B) *Ação sobre os hidratos de carbono.* Não fermentam lactose, sacarose, adonita e salicina; fermentam com produpção de gás glicose, manita, maltose, dulcita, xilose, sorbita, inosita e ramnose.

C) *Reações especiais.* Produção de $H_2S$ — Positiva
Produção de indol — Negativa
Leite tornassolado — Acidez inicial seguida de alcalinidade
Gelatina — Não liquefazem.

III. *Estudo sorológico.*

A) *Determinação da composição antigênica somática.* As oito raças isoladas foram submetidas à aglutinação somática com soros dos grupos A, B, C, D, E e uma mistura de soros de outros grupos menores reunidos, de acordo com o esquema de Kauffmann-White aprovado pela Subcomissão das Salmonelas, em 1939.

O resultado foi positivo unicamente com a mistura de soros do grupo B. Como todas as salmonelas desse grupo contêm o fator somático "IV" e mais alguns outros, teriamos que determinar com soros para os outros fatores somáti-

cos do grupo B a existencia separadamente desses fatores. Achamos mais facil submeter as raças em estudo à aglutinação somática com soros somáticos de *S. paratyphi B*, *S. typhimurium*, *S. budapest* e *S. bredney* (todas do grupo B), tendo verificado serem todas elas aglutinadas a título mais elevado com os dois primeiros soros.

Procuramos, em seguida, verificar si as raças isoladas absorviam os anticorpos somáticos de um soro *S. schottmuelleri*. O resultado foi a absorção dêsses fatores, como se pode ver no Quadro 1.

QUADRO 1

AGLUTINAÇÕES E SATURAÇÕES COM SÔRO "O" DE *S. SCHOTTMUELLERI* (FATORES SOMATICOS) RAÇAS (ANTIGENO "O")

| | *S. schottmuelleri* | R 5 | R 12 | R 13 | R 14 | R 315A | R 317A | R 318A | R 243 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sem saturar | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Saturada com R 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 12 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 13 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 315A | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 317A | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 318A | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " " R 243 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Ficamos, assim, com a possibilidade de indicar a existencia, nas raças em estudo, de fatores somáticos iguais aos de *S. schottmuelleri*, que são tambem os mesmos de *S. typhimurium*, isto é, (I), IV, (V) (*). Achámos inútil, portanto, a determinação da existencia, separadamente, dos fatores "I", e "V", que são inconstantes tanto em *S. schottmuelleri* como em *S. typhimurium*.

B) *Determinação da composição antigênica ciliar.* Em primeiro lugar procuramos verificar a existencia de fatores ciliares não específicos, submetendo todas as raças em estudo à aglutinação com uma mistura de soros ciliares não específicos 1, 2, 3, 5, 6, 7.

As raças R 5, R 12, R 318A e R 243 aglutinaram nitidamente com êsse soro, ao passo que R 13, R 14, R 315A e R 317A, muito pouco. A impressão que tivemos foi que todas elas apresentam antígenos ciliares não específicos.

a) Composição antigênica ciliar específica;

(*) No esquema de Kauffmann-White, de 1939, os fatores entre parênteses são inconstantes.

Fizemos um primeiro grupo de aglutinações com soros para os fatores ciliares específicos b, i, d, r, eh, fg, que apresentam as oito primeiras salmonelas do esquema de Kauffmann-White (1939), na fase 1. Poderiamos ter excluido o soro "fg", correspondendo ao antígeno específico de *S. derby*, que é monofásica e que não apresenta fatores antigênicos não específicos.

QUADRO 2

AGLUTINAÇÕES COM SÔROS "H" FASE 1
(FATORES CILIARES ESPECÍFICOS)

| | Com antigeno "H" de: | Sôros ciliares | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Fator "b" | Fator "d" | Fator "i" | Fator "r" | Fator "eh" | Fator "fg" |
| | | Resultado | Resultado | Resultado | Resultado | Resultado | Resultado |
| | R. 5 | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 12 | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 13 | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 14 | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 315A | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 317A | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 318A | — | — | ++ | — | — | — |
| | R. 243 | — | — | ++ | — | — | — |
| CONTROLES | S. schottmuelleri | ++ | — | — | — | — | — |
| | S. kirkee | ++ | — | — | — | — | — |
| | S. gaminara | — | ++ | — | — | — | — |
| | S. aberdeen | — | — | ++ | — | — | — |
| | S. typhimurium | — | — | ++ | — | — | — |
| | S. virchow | — | — | — | ++ | — | — |
| | S. heidelberg | — | — | — | ++ | — | — |
| | S. reading | — | — | — | — | ++ | — |
| | S. derby | — | — | — | — | — | ++ |

Como se vê no Quadro 2, todas as raças foram aglutinadas unicamente pelo soro correspondente ao antígeno "i".

Como nenhuma outra salmonela do grupo B apresenta o fator ciliar "i", não continuámos a pesquisa de outros fatores específicos.

Portanto, presença em todas as raças do fator específico ciliar "i".

Como no esquema de Kauffmann-White (1939) a única salmonela do grupo B que apresenta o antígeno ciliar "i" é *S. typhimurium*, só nos faltava determinar nas raças em estudo, a existencia, na fase 2, dos fatores não específicos "1, 2"..., para chegarmos à conclusão de se tratar dessa salmonela, o que deverá ser confirmado com provas de absorção.

b) Composição antigênica ciliar não específica:

Apenas procurámos verificar si as raças em estudo apresentavam os fatores antigênicos não específicos "1, 2"... que apresenta *S. typhimurium*. De fato todas as provas feitas nesse sentido revelaram a existencia dêsses fatores antigênicos ciliares nas raças isoladas, que se mostraram também capazes de absorver êsses anticorpos.

Como prova sorológica final verificamos que todas as raças em estudo absorveram os anticorpos somáticos e ciliares de um soro *typhimurium* com anticorpos para os seus antígenos "O" e "H".

Em conclusão, sobre as provas sorológicas, as raças em estudo comportaram-se de maneira idêntica, apresentando todas elas fatores somáticos iguais aos de *S. typhimurium*, e os seguintes ciliares: na fase 1, o fator "i"; na fase 2, os fatores "1, 2", que também são os fatores ciliares de *S. typhimurium*. Ficam, assim, identificados como *S. typhimurium*, que apresenta a seguinte fórmula (I), IV, (V) : i : 1.2...

O ESQUEMA DE KAUFFMANN-WHITE (1939) (*)

| | Tipo | Antigeno O | Antigeno H Fase 1. | Fase 2 |
|---|---|---|---|---|
| | | GRUPO A | | |
| 1 | S. paratyphi A ........ | (I), II | a | — |
| | | GRUPO B | | |
| 2 | S. paratyphi B ........ | (I), IV, (V) | b | 1, 2... |
| 3 | S. abony ............. | I, IV, V | b | e, n, x |
| 4 | S. typhi murium ....... | (I), IV, (V) | i | 1, 2... |
| 5 | S. stanley ............. | IV, V | d | 1, 2... |
| 6 | S. heidelberg .......... | IV, V | r | 1, 2... |
| 7 | S. chester ............. | IV, (V) | e, h | e, n, x |
| 8 | S. reading ............ | IV | e, h | 1, 5... |
| 9 | S. derby ............... | (I), IV | f, g... | — |
| 10 | S. essen .............. | IV | g, m... | — |
| 11 | S. budapest ........... | IV | g, t... | — |
| 12 | S. brandenburg ........ | IV | l, v | e, n |
| 13 | S. bispebjerg .......... | IV | a | e, n, x |
| 14 | S. abortus equi ........ | IV | — | e, n, x |
| 15 | S. abortus ovis ........ | IV | c | 1, 6... |
| 16 | S. abortus bovis ....... | I, IV, XXVII | b | e, n, x |
| 17 | S. bredeney ........... | I, IV, XXVII | l, v | 1, 7... |
| 18 | S. schleissheim ........ | IV, XXVII | b, z 12 | — |

(*) Third INTERNATIONAL CONGRESS FOR MICROBILOGY, New York, September 2-9, 1939. — *Report of Proceedings.*

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **GRUPO C** | | | |
| 19 | S. paratyphi C ........ | VI, VII (Vi) | c | 1, 5... |
| 20 | S. cholerae suis ........ | VI, VII | (c) | 1, 5... |
| 21 | S. typhi suis .......... | | c | 1, 5... |
| 22 | S. thompson .......... | | (k) | 1, 5... |
| 23 | S. virchow .......... | | r | 1, 2... |
| 24 | S. oranienburg ........ | | m, t... | — |
| 25 | S. potsdam .......... | | 1 ,v | e, n |
| 26 | S. bareilly .......... | | y | 1, 5... |
| 27 | S. mikawashima ........ | | y | e, n |
| 28 | S. montevideo .......... | | g, m, s... | — |
| 29 | S. oslo .............. | | a | e, n, x |
| 30 | S. amersfoort .......... | | d | e, n, x |
| 31 | S. braenderup ........ | | e, h | e, n |
| 32 | S. newport .......... | VI, VIII | e, h | 1, 2... |
| 33 | S. kittbus .......... | | e, h | 1, 5... |
| 34 | S. bovis morbificans ... | | r | 1, 5... |
| 35 | S. muenchen .......... | | d | 1, 2... |
| 36 | S. narashino .......... | | a | e, n, x |
| 37 | S. glostrup .......... | | x 10 | e, n |
| | **GRUPO D** | | | |
| 38 | S. typhi .............. | IX, (Vi) | d | — |
| 39 | S. enteritidis .......... | IX | g, m... | — |
| 40 | S. dublin .............. | | g, p... | — |
| 41 | S. rostock .......... | | g, p, u... | — |
| 42 | S. moscow .......... | | g, q... | — |
| 43 | S. blegdam .......... | | g, m, q... | — |
| 44 | S. berta .............. | | f, g, t... | — |
| 45 | S. eastbourne .......... | | e, h | 1, 5... |
| 46 | S. sendai .............. | (I), IX | a | 1, 5... |
| 47 | S. dar es salaam ...... | I, IX | l, w | e, n |
| 48 | S. panama ............ | I, IX | l, v | 1, 5... |
| 49 | S. gallinarum .......... | IX | — | — |
| | **GRUPO E** | | | |
| 50 | S. london .......... | III, X, XXVI | l, v | 1, 6... |
| 51 | S. give .............. | | l, v | 1, 7... |
| 52 | S. anatum .......... | | e, h | 1, 6... |
| 53 | S. muenster .......... | | e, h | 1, 5... |
| 54 | S. nyborg .......... | | e, h | 1, 7... |
| 55 | S. amager .......... | | y | 1, 2... |
| 56 | S. zanzibar .......... | | k | 1, 5... |
| 57 | S. shangani .......... | | d | 1, 5... |
| 58 | S. newinhton .......... | | e, h | 1, 6... |
| 59 | S. selandia .......... | III, XV | e, h | 1, 7... |
| 60 | S. new brunswick ...... | | l, v | 1, 7... |
| 61 | S. senftenberg ........ | I, III, XIX | g ,s, t... | — |
| 62 | S. niloese .............. | | d | z6... |

| | | | |
|---|---|---|---|
| OUTROS GRUPOS | | | |
| 63 S. aberdeen ........... | XI | i | 1, 2... |
| 64 S. poona .............. | XIII, XXII | z... | I, 6... |
| 65 S. worthington ......... | I, XIII, XXIII | l, w | z... |
| 66 S. wichita ............ | I, XIII, XXIII | d... | — |
| 67 S. carrau ............. | VI, XIV, XXIV | y | I, 7... |
| 68 S. onderstepoort ....... | [I], VI, XIV, XXV | e, h | I, 5... |
| 69 S. hvittingfoss ......... | XVI | b | e, n, x |
| 70 S. gaminara .......... | XVI | d | I, 7... |
| 71 S. kirkee ............. | XVII | b | I, 2... |
| 72 S. kentucky ........... | [VIII], XX | i | z6... |
| 73 S. minnesota .......... | XXI, XXVI | b | e, n, x |
| 74 S. tel-aviv ............ | XXVIII | y | e, n |

( ) = Estes antígenos podem faltar. Os únicos antígenos H indicados dessa maneira, são os antígenos "c" e "k" cuja ausência resulta nas duas variantes não específicas mais importantes praticamente, ex. *Salmonella cholerae suis* var. kunzerdorf e *S. thompson* var. *berlin.*

[ ] = Somente parte do antígeno O presente.

... = Fórmulas abreviadas.

Como êste esquema foi feito para uso prático da determinação dos tipos sorológicos, sómente antígenos de importância diagnóstica foram incluidos.

## DISCUSSÃO

A frequência de infecções por salmonelas vem sendo assinalada em quasi todas as nações, mas só recentemente (1930) se conseguiu a distinção destas espécies patogênicas para os homens e animais, graças aos estudos de White logo seguidos dos de Kauffmann. Para se evidenciarem os caracteres fixos das diversas espécies, fizeram êles estudo aprofundado dos múltiplos fatores antigênicos que compõem as salmonelas.

De fato, tem havido uma grande confusão durante muito tempo nos estudos experimentais e clínicos sobre salmonelas e salmoneloses, devido ao fato de na sua quasi totalidade apresentarem as salmonelas caracteres bioquímicos iguais; no entanto, este tem sido até bem pouco tempo o principal processo de estudo e identificação dessas bacterias.

Com os últimos trabalhos de Kauffmann e White (1926-1929) sobre a constituição antigênica das salmonelas e a objetivação desses estudos na apresentação de um esquema, as identificações atuais, embora muito complicadas, podem ser rigorosamente feitas.

No Uruguai, Hormaeche e seus colaboradores têm publicado grande número de trabalhos assinalando os ratos, aves e o gado porcino e bovino como focos de infecção permanente por salmonelas.

São naturalmente êsses animais que contaminam os alimentos e vão provocar a maior parte das conhecidas infecções alimentares.

Edwards e Bruner (13), em trabalho apresentado ao Terceiro Congresso Internacional de Microbiologia, reunido em Nova York, em 1939, estudando a ocorrencia de salmonelas em diversos animais, verificaram que *S. typhimurium* é a mais encontrada nos ratos, raposas, cachorros, cavalos, ruminantes e também nas aves (não incluiram estudos sobre *S. pullorum* e *S. gallinarum*).

Embora as salmonelas de origem animal sejam pouco patogênicas para o homem adulto e os animais quasi insensiveis às de origem humana (doutrina de Kiel), os estudos de Hormaeche vêm afirmando que a criança tem uma insensibilidade até agora não suspeitada para as salmonelas de origem animal, que nelas produzem infecções graves (doutrina de Montevideo).

Como vimos acima, correndo ligeiramente a literatura sobre o assunto, as salmonelas mais encontradas nos ratos têm sido *S. typhimurium* e *S. enteritidis*, que também, nas infecções alimentares, são as mais comumente isoladas dos doentes.

Os alimentos como veículos de salmoneloses são de facil estudo, ao passo que a demonstração da sua contaminação pelos ratos já é mais dificil, pois, como dizem Mayer e Matsumura (*loc. cit.*): "It is therefore not easy, in fact, for obvious reasons impossible to ascertain in any outbreak of food infection if the contamination came from rodents".

O alto grau de parasitismo bacteriano dos ratos, principalmente de salmonelas e a facilidade de contacto desses roedores com os produtos alimentares e seus utensilios — possibilitam a transmissão dessas bacterias ao homem, provocando-lhe infecções alimentares.

* * *

O processo para a identificação sorológica de salmonelas exige que se faça, como última prova, a de saturação mutua de anticorpos. Teriamos que: a) preparar soros com as raças que acabamos de identificar: b) verificar si apresentam anticorpos para todos os fatores antigênicos de *S. typhimurium;* c) verificar si *S. typhimurium* absorve todos os anticorpos produzidos; d) constatar a absorção, pelas raças isoladas, dos anticorpos "O" e "H" de um soro *S. typhimurium.*

Julgamos a prova de saturação mutua indispensavel para a determinação de uma espécie nova, como, ainda, para casos especiais de identificação. Em nosso caso, achamos perfeitamente dispensavel essa prova completa (que viria trazer muito maior perda de tempo e de dispendio na aquisição de coelhos), por se tratar de salmonelas que só foram aglutinadas com soro do grupo B e que apresentam

o fator ciliar "i". Ora, o esquema de Kauffmann-White apenas nos indica como possuindo o fator ciliar "i", nesse grupo, a *S. typhimurium*. As salmonelas Aberdeen e Kentucky, que também apresentam o fator ciliar "i", são de outros grupos, que apresentam outros fatores somáticos.

O item (d) da prova de saturação mutua, isto é, a salmonela deve absorver os anticorpos correspondentes aos fatores antigênicos de uma solmonela homóloga, julgamos indispensavel em qualquer identificação, razão pela qual nós o fizemos, confirmando a existencia dos fatores antigênicos encontrados.

Não démos aqui todos os detalhes da identificação sorológica, cuja técnica seguida foi discutida por um de nós (Assumpção, L.) em trabalho anterior (14).

## RESUMO


Correndo a literatura sobre o assunto vê-se que nestes últimos anos um grande número de infecções alimentares têm sido estudadas, tanto em adultos como em crianças, algumas em formas epidêmicas graves, em que os ratos são incriminados como veículos de salmonelas, sendo estas isoladas dos seus orgãos internos, dos alimentos por êles contaminados e das fezes dos doentes.

As salmonelas mais comumente encontradas nêsses casos têm sido *S. typhimurium* e *S. enteritidis*.

Existia muita confusão no strabalhos feitos antes dos estudos de Kauffmann e White sobre a constituição antigênica das salmonelas, por terem sido elas identificadas principalmente pelos seus caracteres bioquímicos. Sabe-se agora, serem iguais os caracteres bioquímicos de quasi todas as salmonelas, que, no entanto, formam tipos nitidamente diferenciados pelos seus caracteres sorológicos.

Entre nós não foram encontrados estudos feitos sobre salmonelas em ratos em que a identificação fosse feita pelo esquema de Kauffmann-White.

Foram examinados 950 ratos capturados em diversas partes da cidade de São Paulo.

O material (baço e fígado), reunido sempre de 5 a 20 ratos formando uma partida, era semeado em meio de enriquecimento (meio de Kauffmann) e, após 2 e 5 dias de estufa, passado em placas com meio proprio ao isolamento.

De oito partidas foram isoladas bacterias que puderam ser identificadas como salmonelas no estudo das suas propriedades bioquímicas.

O estudo sorológico feito de acordo com o esquema de Kauffmann-White revelou serem todas iguais, apresentando a seguinte composição antigênica somática e ciliar:

*Composição antigênica somática.* Todas elas deram reações aglutinantes positivas unicamente com os soros somáticos do grupo B e revelaram a presença

dos fatores somáticos iguais aos de *S. schottmuelleri* e *S. typhimurium*, que o esquema apresenta da seguinte maneira: (I), IV, (V). Foram feitas provas que demonstraram serem todas as raças em estudo capazes de absorver os anticorpos somáticos de um soro somático de *S. schottmuelleri*.

*Composição antigênica ciliar.* Na aglutinação ciliar todas elas deram resultados positivos com uma mistura de soros ciliares não específicos, indicando a presença de antigenos na fase não específica.

Na pesquisa dos fatores ciliares da fase específica que apresentam as salmonelas do grupo B, todas foram aglutinadas unicamente com soro para o fator "i".

Na fase não específica ficou demonstrada a existencia dos fatores "1, 2".

Apresentando as raças isoladas fatores antigênicos somáticos e ciliares iguais aos de *S. typhimurium*, (I) IV, : i : 1, 2..., ficam assim identificadas, sendo que, em provas finais, todas elas absorveram completamente as aglutininas somáticas e ciliares de um soro total *S. typhimurium*.


## ABSTRACT

In the last few years a great number of studies on the subject of food infections in adults and in children have been published. Some were severe epidemics in which rats were incriminated as carriers of salmonellas, with isolation of these organisms from viscera of these rats, from foodstuffs infected by these animals, and from patients' feces.

The organisms most frequently found have been *S. typhimurium* and *S. enteritidis*.

There was considerable confusion in the literature before the studies of Kauffmann and White upon the antigenic constitution of the Salmonella group, because these germs were identified chiefly by their biochemical properties. We know that the great majority of the salmonellas have the same biochemical properties but that different types may be clearly determined by their serological characters.

The present report is the first of this nature done in Brazil.

Nine hundred and fifty rats were captured in various parts of the city of São Paulo and were examined. The spleens and livers, in groups of from 5 to 20 rats were inoculated in an enriched culture media (Kauffmann) and, after 2 to 5 days of incubation, plated for isolation. From eight such lots there were isolated bacteria identified by their biochemical properties as salmonellas.

The serological study, in accordance with the Kauffmann-White scheme, showed all of them to be alike and they presented the following somatic and ciliar antigenic structure.

*Antigenic somatic composition.* All of them gave positive agglutinating reactions only with somatic sera of group B and showed the presence of a somatic factor equal to those of *S. schottmuelleri* and *S. typhimurium* which the scheme illustrates in the following manner: (I), IV, (V). Experiments were made which showed that all the types under study were able to absorb the somatic antibodies of a somatic serum of *S. schottmuelleri*.

*Ciliar antigenic composition:* In the ciliar agglutination all of them gave positive results with a mixture of non-specific ciliar sera indicating the presence of antigens in a non-specific phase.

In the investigating of ciliary factores of the specific phase, which the salmonellas of group B show, all were agglutinated only with serum for the factor "i".

In the non-specific phase the existence of factors "1,2" was demonstrated.

The isolated types showed antigenic somatic and ciliary isolated factors equal to *S. typhimurium* — (I), IV, (V) : i : 1,2... — They were in this way identified, and in final tests completely absorb the somatic and ciliary agglutinins of a *S. typhimurium* serum.

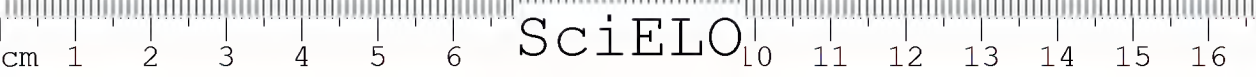
## BIBLIOGRAFIA


1. *Savage, G. W. & White, P. B.* — *Rats and salmonella group bacilli* — *J. Hyg.* 21:258. 1922-23.
2. *Salthe, O. & Krumwiede, C.* — An epidemic food infection due to a paratyphoid bacillus of rodentium origin — Am. J. Hyg. (Monographic Series) 4:23. 1924.
3. *Spray, B. S.* — An outbreak of food poisoning probably due to "rat virus" — J. Am. Med. Assn. 86(2):109. 1926.
4. *Meyer, K. F. & Batchelder, A. P.* — A disease of wild rats caused by *Pasteurella muricida*, n. sp. — J. Infect. Dis. 39:386. 1926.
5. *Meyer, K. F. & Matsumura, K.* — The incidence of carriers of *B. aestrycke* (*P. pestis caviae*) and *B. enteritidis* in wild rats of San Francisco — J. Inf. Dis. 41:394. 1927.
6. *Verder, E.* — The wild rat as a carrier of organisms of the paratyphoid enteritidis group — Am. J. Publ. Health 17:1007. 1927.
7. *Fialho, A. & Pacheco, G.* — Verificações histo-bacteriológicas em ratos no Rio de Janeiro — Arch. Hig. (Rio de Janeiro) 4(11):31.
8. *Hatta, S.* — The relations between the salmonella group and house rats in Tokio City — Jap. J. Exp. Med. 16:201. 1938.
9. *Bartram, M. T.; Welch, H. & Ostrolenk, M.* — Incidence of members ob the *Salmonella* group in rats — J. Inf. Dis. 67(3):222. 1940.
10. *Zozaya, J. & Varela, G.* — Infección de ratones con salmonelas — Ciencia 2(1):20. 1941.
11. *Welch, H.; Ostrolenk, M. & Bartram, M.* — Rôle of rats in the spread of food poisoning bacteria of the Salmonella group — Am. J. Publ. Health 31(4):332. 1941.

12. *Marchiavello, Abilio* — Pseudo-tuberculosis murina — Arq. Higiene (Rio de Janeiro) 12(3):93. 1942.

13. *Edwards, R. P. & Bruner, W.* — The antigenic analysis of Salmonella species derived from domestic animals —Third Internt. Congr. Microbiology — Report of Proceedings — New York, 1940.

14. *Assumpção, L.* — Estudo de uma *Salmonella derby* (isolada em São Paulo) pelo esquema de classificação sorológica de Kauffman-White — Boletim Int. Higiene S. Paulo (76). 1942.

(Trabalho de colaboração do Instituto de Higiene de São Paulo e da Seção de Bacteriologia: Peste e Cocos Gram-negativos do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 8 de setembro de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

616.911

# O PAPEL DO ESTREPTOCOCO NO PÊNFIGO FOLIACEO (FOGO SELVAGEM) ESTUDO CLINICO-BACTERIOLOGICO

POR

B. MARIO MOURÃO

## SUMARIO

CAPÍTULO I — Introdução.

CAPÍTULO II — Revisão bibliográfica de trabalhos sobre estreptococos nas dermatoses filiadas ao grupo do Pênfigo.

CAPÍTULO III — Orientação experimental.

CAPÍTULO IV — Casos clínicos.

CAPÍTULO V — Epidermoculturas:

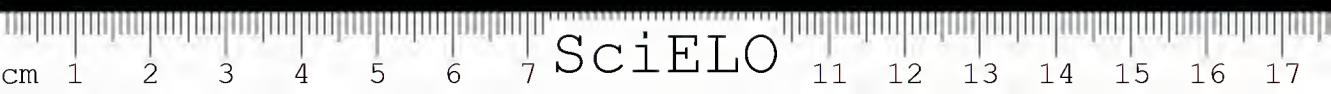
A) Casos estudados.
B) Condições técnicas.
C) Material colhido:

1. Bolhas.
2. Crostas.
3. Punção em base de bolhas.

D) Semeaduras.
E) Resultados:

a) Epidermoculturas dos casos de Pênfigo Foliaceo:

1. Fase de invasão bolhosa.
2. Formas generalizadas crônicas.
3. Forma frusta.
4. Casos em regressão com sequelas da dermatose.
5. Casos curados, com e sem sequelas da dermatose

b) Epidermoculturas em 5 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring.
c) Epidermocultura em um caso de Pênfigo Agudo Febril.

CAPÍTULO VI — Hemoculturas:

A) Casos estudados.
B) Colheita de sangue e condições técnicas.
C) Semeaduras.
D) Resultados.

a) Hemoculturas em casos de Pênfigo Foliaceo:

1. Resultados gerais.
2. Resultados, considerando a fase ou forma clínica.
3. Resultados, considerando o início da dermatose.
4. Hemoculturas positivas para estreptococos. Relação entre a gravidade dos casos clínicos e o tipo de hemolise e virulência dos estreptococos isolados.
5. Hemoculturas positivas para estafilococos. Relação dos casos clínicos com a capacidade eritrocitolítica e cromogenicidade dos estafilococos isolados.
6. Hemoculturas positivas e quadro térmico.

b) Hemoculturas em 4 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring.
c) Hemocultura em um caso de Pênfigo Vegetante.
d) Hemocultura em um caso de Pênfigo Agudo Febril.

CAPÍTULO VII — Verificações "ante e post mortem":

A) Casos estudados.
B) Colheita de material.
C) Material colhido.
D) Semeaduras.
E) Animais inoculados.
F) Resultados.

I. Necropsias de casos de Pênfigo Foliaceo:

a) Estreptococos.
b) Outros germes isolados.
1. Resultados gerais.
2. Resultados obtidos particularmente a cada órgão ou material patológico.
3. Animais inoculados.
4. Dados cuja importância releva assinalar.

II. Punções cardíacas "post mortem".

1. Resultados gerais.
2. Dados cuja importância releva assinalar.

III. Hemoculturas "ante mortem".
IV. Casos de controle.

CAPÍTULO VIII — Identificação dos estreptococos.

A) Amostras estudadas.
B) Caracteres microscópicos.
C) Caracteres culturais.
D) Caracteres ecológicos.
E) Caracteres bioquímicos.
F) Ação patogênica.
G) Classificação sorológica.
H) Comentários.

CAPÍTULO IX — Pesquisas sobre as toxinas dos estreptococos hemolíticos isolados de doentes de Pênfigo.

A) Ligeiras considerações.
B) Ação eritrocitolítica.
C) Ação eritematogênica e toxicidade para pequenos animais:

1. Produção da toxina.
2. Inoculação em animais de laboratório.
3. Resultados.

D) Ação fibrinolítica:

1. Estreptococos e plasmas utilizados.
2. Técnica utilizada.
3. Resultados.

CAPÍTULO X — Discussão das pesquisas realizadas. Outros aspectos clinico-experimentais:

— Os estreptococos em Dermatologia.
— Os estreptococos do Pênfigo Foliaceo. A toxina eritematogênica. Reação da fibrinólise.
— A estreptococia cutânea no Pênfigo Foliaceo e na Dermatite Herpetiforme de Duhring.
— Hemoculturas positivas.
— A invasão cadavérica por estreptococos hemolíticos.

CAPÍTULO XI — Considerações e conclusões.

CAPÍTULO XII — Resumo.

## CAPITULO I

## INTRODUÇÃO

Problema algum de dermatologia tropical, na atualidade, se nos apresenta tão interessante quanto o estudo dessa curiosa e grave enfermidade cutânea, que grassa endemicamente em extensas áreas do interior do Brasil, denominada Pênfigo Foliaceo, nome científico, ou "Fogo Selvagem", nome popular.

Numerosas têm sido as contribuições aparecidas, nestes últimos anos, sôbre esta moléstia penfigosa, algumas dotadas de profunda originalidade e alto espírito investigador que, indiscutivelmente, ergueram um pouco o nebuloso véu que encobria sua obscura étio-patogenia.

Entre os trabalhos experimentais mais importantes, ressaltamos o de Lindenberg (1), que inoculou coelhos e cobáios com sangue de portadores de Pênfigo e de Dermatite de Duhring, obtendo nos animais inoculados lesões vegetantes, após um período de incubação variavel; obteve ainda Lindenberg, a reprodução dessas lesões por passagens seriadas e concluiu suas pesquisas, achando que o "Fogo Selvagem" é uma moléstia infecciosa, produzida por um virus que circula no sangue e é transmissivel a animais de laboratório. A Dermatite de Duhring e o Pênfigo Vulgar teriam a mesma etiologia.

Entretanto o trabalho de Lindenberg não foi confirmado por outros pesquisadores nacionais. Em colaboração com Artigas (2 e 3), no Instituto Butantan, em 1938, em intensivas experiências, visando a natureza infecciosa a virus, tivemos resultados negativos.

Em 1939, no Instituto "Conde de Lara", em trabalho de parceria com Vieira (4), também não conseguimos provar a etiologia a virus do Pênfigo Foliaceo.

Recentemente, publicamos um artigo de revisão (5), em que não conseguimos comprovar a existência de virus no Pênfigo, utilizando como *inoculum* liquido céfalo-raquidiano e orgãos retirados de necrópsias de individuos falecidos com a dermatose. Nesse trabalho, contudo, fomos de opinião que não se devem encerrar as pesquisas etiológicas neste campo de investigação, como se depreende das nossas conclusões:

1.º — No estado atual dos nossos conhecimentos não se pode afirmar a possibilidade da natureza infecciosa a virus do Pênfigo Foliaceo.

2.º — Não conseguimos em nossas experiências um quadro mórbido que caracterizasse a presença de virus dermo-, viscero- ou neurotrópico nos animais inoculados com material oriundo de doentes de Pênfigo Foliaceo.

3.º — Enquanto a etiologia do Pênfigo Foliaceo não for esclarecida, achamos que as pesquisas sôbre isolamento de virus devem ser continuadas, utilizando-se, entretanto, de condições experimentais originais.

Em vista de tais resultados resolvemos retomar a questão e iniciamos uma série de pesquisas no setor bacteriológico, visando uma nova pista de estudo. Ficamos realmente surpreendidos, desde o início das nossas experiências, com a relativa facilidade com que se consegue isolar estreptococos hemolíticos e viru-

lentos nos portadores de "Fogo Selvagem" e resolvemos, em vista desse fato, estudar metodicamente as bactérias piogênicas no Pênfigo e em outras dermatoses, bolhosas ou não.

Pertencendo atualmente a um serviço em que a menor das dificuldades consiste na obtenção de material patológico para averiguações laboratoriais, propuzemo-nos elucidar, tanto quanto possivel, o papel reservado aos estreptococos no quadro nosogênico do "Fogo Selvagem". E' o que pretendemos mostrar neste nosso despretencioso trabalho, fruto de demoradas e pacientes pesquisas clinico-bacteriológicas.

## CAPITULO II

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DE TRABALHOS SÔBRE ESTREPTOCOCOS NAS DERMATOSES FILIADAS AO GRUPO DO PÊNFIGO

Nas dermatoses pertencentes ao complexo grupo do Pênfigo, entre as quais se inclue o Pênfigo Foliaceo ou Pênfigo Tropical (*), numerosos trabalhos, em várias partes do mundo, têm evidenciado a presença dos estreptococos: ou focalizando o seu aparecimento com simples achado bacteriológico de importância secundária, ou responsabilizando-o categoricamente como agente produtor da doença.

No Brasil, onde os estudos sôbre o Pênfigo Tropical despertaram grande interesse, em vista da frequência com que essa dermatose é observada em certas regiões do Pais, não fugimos à regra:

Aleixo (6), em 1917, constatou em material proveniente de bolhas, cocos estreptiformes. Vieira (7), em 1937, isolou estreptococos *viridans* e hemoliticos por hemoculturas. Artigas & Mourão (2 e 3), em 1939, assinalaram em material cutâneo de Pênfigo a presença de um estreptococo hemolitico. Aranha Campos (8), em 1942, conseguiu isolar estreptococos em cultura pura da corrente sanguinea de doentes de Pênfigo e, num caso, de gânglios enfartados.

Em vários paises da Europa e nos Estados Unidos as moléstias cutâneas filiadas ao grupo do Pênfigo são relativamente raras. Os pesquisadores lutam

(*) A denominação de Pênfigo Foliáceo é falha, não correspondendo aos vários quadros clinicos da moléstia. Vieira (26) classificou dermatologicamente o sindromo entre nós, no qual o tipo *foliáceo* é a fase da evolução clinica mais comum nas formas generalizadas crônicas. A denominação de Pênfigo Tropical foi proposta por Paranhos & Pedroso (27), em 1909, depois por Vieira (28), em 1922, e aprovada ou admitida por Artom (29), Guimarães (30), Aranha Campos (8) e outros estudiosos do assunto. Para melhor distinguir a variedade de Pênfigo que existe entre nós, a adoção médica do nome popular *Fogo Selvagem* seria conveniente. Durante a nossa exposição empregaremos indiferentemente as três sinonimias.

com escassez de casos clínicos e, êste fato, pode ser notado nos trabalhos que se referem ao papel dos estreptococos no Pênfigo. Mesmo assim, não são poucas as contribuições interessantes que compulsamos e que podem ser resumidas da seguinte maneira:

Eberson (9), em 1925, isolou do sangue total de 7 casos de Pênfigo Vulgar e, uma única vez, de líquido de bolhas contaminadas, uma bactéria cocóide, Gram positiva, pleomórfica, anaeróbia, a qual denominou de *Bacterium pemphigi*. De todos os casos os germes provaram ser sorologicamente idênticos. Duas das amostras isoladas foram utilizadas para a pesquisa da patogenicidade em animais de laboratório: o germe é avirulento para macacos e virulento para coelhos e cobáios, e neste último animal determina lesões cutâneas. Aponta a possibilidade de uma substância tóxica, secretada pelo *Bacterium pemphigi*, ser capaz de formar bolhas e vesiculas. Fez uma grande série de controles, realizando hemoculturas com sangue de indivíduos normais e de doentes de outras dermatoses com resultados sempre negativos.

Shaleck (10), em 1925, descreveu um caso de Pênfigo Agudo Séptico, de evolução rápida, com erupção generalizada, no qual demonstrou a presença do *Bacterium pemphigi*. Na discussão do trabalho de Schaleck, Sutton (11) diz acreditar que esta forma de Pênfigo ocorre invariavelmente em açougueiros e veterinários, supondo que um estreptococo virulento poderia ser o agente responsavel. Schamberg (12), ainda comentando a comunicação de Schaleck, disse que teve a oportunidade de fazer pesquisas bacteriológicas em 12 casos de Pênfigo. Apenas, em um único caso, encontrou o "bacilo de Eberson". De numerosos pacientes cultivou estreptococos do sangue, depois da mais rigorosa assepsia da pele. Acha que o Pênfigo é uma doença infecciosa aguda, mas há dúvidas quanto ao agente patogênico. O estreptococo é um germe muito disseminado, encontrado sob as mais diversas condições, seja como saprófita, ou em certos casos, acarretando efeitos patogênicos específicos. Em vista dos seus achados acredita que a causa bacteriológica do Pênfigo ainda não foi esclarecida. O pleomorfismo do estreptococo sugere a possibilidade de ser o "bacilo de Eberson" um tipo pleomórfico do estreptococo.

Mc Even (13), em 1928, relatou um caso de Pênfigo Crônico e relacionou as manifestações clinicas com as observações bacteriológicas. O trabalho foi orientado, supondo ser a doença devida a uma infecção sanguinea de origem focal dentária. Isolou do seu caso estreptococos hemolíticos por hemocultura e as bolhas mostraram crescimento dos mesmos e estafilococos dourados. Na necrópsia isolou estreptococos hemoliticos de um abcesso do pescoço, do tecido

do baço e do liquido espinhal. As culturas de sangue do coração esquerdo nada revelaram e as do direito, em anaerobiose, revelaram crescimento de uma única colônia de *Staphylococcus aureus*, que acreditou ser de contaminação. Os estreptococos isolados durante a vida e os isolados na necrópsia mostraram os mesmos caracteres bioquímicos. Conclue serem as manifestações cutâneas relacionadas etiologicamente com a estreptocemia e que a invasão do sangue está em direta relação com a enucleação de focos dentários patológicos infectados por estreptococo. Schamberg (14), na discussão do trabalho, não compreendeu inteiramente se a infecção estreptocócica do abcesso periapical pudesse ser a causa do Pênfigo ou simplesmente um fator adicionado. Em doentes com lesões cutâneas, pode perfeitamente haver uma invasão estreptocócica da corrente sanguínea. Lembra o trabalho de Councilman, realizado há anos, que todo o doente morto com varíola, morre de infecção estreptocócica. Não há dúvida que a infecção dentária tenha agravado a doença, mas duvida que o estreptococo hemolitico seja a causa do Pênfigo. Acredita, todavia, que um estreptococo com caracteristicos próprios, possa ser a causa da doença. Acrescenta que o "*bacilo de Eberson é admitido pelo próprio Eberson como pertencente ao grupo dos estreptococos.*"

Arton (15), em 1928, num documentado trabalho, faz a descrição de um caso clinico de septicemia por estreptococo piógeno. No decurso da septicemia houve uma erupção generalizada de bolhas, aparecendo depois lesões papilomatosas, com o quadro clínico de Pênfigo Vegetante. Os sintomas da septicemia diminuiram com o aparecimento de tais formas mórbidas, e o caso involuiu lentamente de forma apirética, com tendência expontânea à regressão. Depois de um período de acalmia durante dois meses, a temperatura voltou ao tipo séptico, mostrando as hemoculturas a presença de estreptococos, surgindo uma erupção bolhosa difundida a todo o corpo, com os caracteres de Pênfigo Vulgar Agudo e alguns elementos com tendência à forma vegetante. A necrópsia confirmou a septicemia.

Prochazka (16), em 1929, no seu trabalho sôbre os estreptococos como causa de Pênfigo e de Eczema, apresentou a questão de que o estreptococo pode agir como agente patogênico, sob uma forma de desenvolvimento e de atividade especial, de modo a dar, em lugar de uma estrepto-septicemia com erupções bolhosas, o quadro do Pênfigo Crônico. Prochazka observou a existência na torrente circulatória de toxina estreptocócica em casos de Eczema, Erisipela, Eritema Polimorfo e Pênfigo e acredita que à tal substância se deva atribuir o Pênfigo, ainda quando não se consiga demonstrar bacteriologicamente a presença do estreptococo. Para sustentar o seu ponto da vista, êsse A. inoculou intradermi-

camente o liquido de bolha esteril em um indivíduo são. À inoculação seguiu-se um surto de Pênfigo Séptico; no sangue foi isolado um diplococo Gram positivo; curado o Pênfigo, uma injeção intradérmica de vacina estreptocócica determinou um grave choque anafilático. Com êste fato Prochazka pretendeu demonstrar a existência de uma toxemia estreptocócica. Radaeli (17), comentando o trabalho, indaga se a presença da toxina estreptocócica no sangue, tanto em doentes de Pênfigo quanto de Eczema, não seria mais facilmente explicavel pela existência de algum foco de infecção estreptocócica secundária, facil de verificar-se nessas doenças.

Mallard, Maire & Philibert (18), em 1931, expuzeram um caso de Pênfigo Agudo em um soldado que não apresentava qualquer antecedente mórbido. O Pênfigo apareceu no decurso de uma pleurite soro-fibrinosa aguda e com escarlatina benigna. Foi a primeira vez, como dizem os A. A., que um caso de Pênfigo foi notado durante a convalescença de escarlatina. Comentam que o estreptococo parece ser aqui a causa do Pênfigo.

Ciani (19), em 1931, em um caso de Pênfigo Vulgar, datando de um ano, verificou hemoculturas negativas e o liquido de bolhas mostrou repetidamente a presença de um estreptococo fortemente hemolítico. A cuti-reação, feita com vacina estreptocócica autógena, deu resultado positivo com o doente e negativo com os controles. O estreptococo era virulento para coelhos e ratos e avirulento para cobaios. A terapêutica consistiu na aplicação de vacinas autógenas, havendo rápida melhora do estado geral, abaixamento progressivo da temperatura, reaparecimento da forma bolhosa e cura da doença.

Radaeli (17), em 1931, nas conclusões de seu trabalho sôbre Pênfigo e Penfigóides, apresentado na XXVII.ª Reunião do Soc. Ital. de Derm. & Sifilografia, diz que as pesquisas bacteriológicas no grupo do Pênfigo deveriam ser especialmente orientadas em torno do "bacilo de Eberson", da eventual importância duma forma especial do estreptococo e do "bacilo de Radaeli"; até aquela ocasião nenhum daqueles germes forneceu dados seguros para a solução do problema etiológico.

Manca (20), em 1932, em um caso de Pênfigo Vulgar, seguido de forma recidivante de tonsilite lacunar complicada com parotidite, no qual isolou um estreptococo hemolítico do sangue e do liquido de bolhas, conclue que o Pênfigo Vulgar é um sindromo cutâneo, relacionado a vários agentes mórbidos, não se podendo, por isso, responsabilizar um único germe na gênese da dermatose.

Grace (21), em 1934, realizou um trabalho para verificar se a bacteriemia no Pênfigo era responsavel pela mudança do quadro leucocitário. Foram realizados exames bacteriológicos num caso de Pênfigo Vulgar e noutro de Pênfigo Vegetante. Em ambos isolou estreptococos hemolíticos em cultura pura no li-

quido flictenar durante a vida, e por punção cardíaca na necrópsia. As amostras, por prova de absorção de aglutininas, possuiam relações entre si. Dez dias antes do doente de Pênfigo Vulgar morrer, foi seu soro sanguíneo inoculado por via intracardíaca em um cobáio. O animal morreu dois meses depois tendo sido isolados de abcessos no fígado, na necrópsia, estreptococos hemolíticos em cultura pura. Como os exames do líquido de bolhas foram feitos antes da morte dos doentes, respectivamente, 30 dias num caso e 60 no outro, Grace é de opinião que houve uma bacteriemia progressiva e subaguda em ambos, iniciada, provavelmente, na ocasião da colheita do líquido de bolhas.

A Welsh (22) se deve um dos trabalhos mais interessantes e completos sôbre os estreptococos no Pênfigo, realizado em 1934. Welsh, em 7 casos de Pênfigo, isolou estreptococos do sangue, do líquido de bolhas e do material colhido no naso-faringe. Os estreptococos isolados, possuiam características próprias e específicas, quanto à sua morfologia, caracteres culturais, comportamento nos hidratos de carbono e na curva de distribuição da mobilidade cataforética; eram virulentos para 5 espécies de animais de laboratório e produziram lesões que se aproximavam às do Pênfigo. Injeções de suspensão de germes mortos, por vias intradérmica e subcutânea, produziram bolhas nos penfigosos. As amostras mostraram ser sorologicamente iguais. Como controle usou estreptococos isolados de 4 casos de Dermatite Herpetiforme e de 7 casos de Lupus Eritematoso. A redução da mobilidade cataforética dos respectivos estreptococos pelos soros de doentes com Pênfigo, Dermatite Herpetiforme, Lupus Eritematoso e Eritema Multiforme, foi aplicada como prova de diagnóstico diferencial entre estas 4 doenças.

Bona (23), num trabalho publicado em 1934, mostra-se descrente quanto à causologia do Pênfigo, não obstante haverem sido feitas numerosas investigações clínicas e de laboratório. Diz que no grupo do Pênfigo existe uma forma clínica que é nitidamente de origem infecciosa: o chamado Pênfigo Agudo Febril que, na sua opinião, é uma manifestação cutânea de uma septicemia. Nas outras formas clínicas a infecção geral não é tão evidente, mas com maior ou menos dificuldade, exames clínicos e biológicos podem fazer luz. Parece a Bona que o Pênfigo não passa de uma modalidade reacional anátomo-patológica da pele em relação a uma infecção tóxica, que pode ser desencadeada por qualquer agente infeccioso, destacando-se os estreptococos, estafilococos e bacilo piociânico, como os mais comuns.

Casazza (24), em 1936, ao relatar um caso de Penfigóide Agudo, coincidindo com uma infecção estreptocócica, acredita que a dermatose surgiu, obedecendo ao seguinte esquema: foco estreptocócico → difusão na circulação do germe infectante → fixação na pele → bolha estreptocócica.

Leone (25), em 1938, justifica o seu substancioso trabalho, dizendo que entre as diversas teorias da Dermatite Herpetiforme (*) existe uma que atribue ao estreptococo a causa da doença. Os argumentos derivam, em parte, das pesquisas bacteriológicas e sorológicas e, em parte, da observação clínica. Realizou exames bacteriológicos em 12 casos de Dermatite Herpetiforme, com o escopo de estabelecer qual a parte que diz respeito ao estreptococo na etiologia dessa dermatose. Seus resultados principais foram: 1) que a reação bolhosa obtida com vacina estreptocócica ou com estreptococos vivos não demonstra a importância etiológica dêsse germe, porquanto, idênticas reações foram obtidas com vacina gonocócica e com estafilococos vivos: trata-se, portanto, de uma reação isomorfa, análoga ao sintoma de Köbner no psoríase. 2) Nem mesmo a presença frequente do estreptococo no líquido de bolha pode ser considerada como uma prova de que tal bactéria possa ser responsabilizada pela gênese da dermatose. 3) Admite que o estreptococo penetra secundariamente através da cúpula da bolha: esta dedução foi plenamente confirmada, demonstrando que cúpulas de bolhas espontâneas ou artificialmente provocadas são permeaveis aos estreptococos. 4) Conclue seu trabalho afirmando que as pesquisas bacteriológicas e sorológicas depõem contra a importância do estreptococo na etiologia da Dermatite de Duhring.

## CAPITULO III

## ORIENTAÇÃO EXPERIMENTAL

As bactérias piogênicas — conhecidas como germes de invasão, supuração ou infecção secundária, principalmente os estreptococos — proliferam abundantemente nas eflorescências cutâneas dos doentes de Pênfigo Foliaceo. Foi nosso escopo não somente isolar e identificar êsses microorganismos, mas principalmente elucidar a ação desempenhada por êles na marcha evolutiva da dermatose e seus efeitos no organismo enfermo. Para isso resolvemos praticar exames bacteriológicos em grande escala das lesões externas e do sangue, sem seleção de casos clínicos, de todos os doentes que estiveram ao nosso alcance. Posteriormente essas pesquisas foram extendidas aos casos falecidos com a moléstia, realizando-se nas necrópsias culturas de sangue do coração, de órgãos das cavidades fechadas e de líquidos cavitários anormais, quando existentes.

Os resultados a que chegamos, reveladores da interferência direta dos estreptococos na evolução e mecanismo étio-patogênico do "Fogo Selvagem" e esclare-

(*) Citamos este interessante trabalho, porque além da Dermatite Herpetiforme estar intimamente relacionada ao grupo do Pênfigo, foram estudados no presente trabalho, a titulo de controle, 5 doentes atingidos dessa afecção bolhosa.

cedores de muitos fatos até agora obscuros no seu quadro clínico, motivaram a presente publicação.

A orientação experimental foi assim planejada e executada:

1) Prática de epidermoculturas;
2) Prática sistemática de hemoculturas;
3) Verificações bacteriológicas "ante e post mortem".

Isolado qualquer germe, desde que oferecesse interesse, era o mesmo conservado no laboratório para estudos posteriores.

Relativamente aos estreptococos hemolíticos, o seguinte critério foi adotado:

a) Identificação (morfologia, caracteres ecológicos e culturais, propriedades bioquimicas, classificação sorológica);

b) Patogenicidade para animais de laboratório;

c) Produção e estudos sôbre as toxinas (ações tóxicas para pequenos animais, eritematógena, eritrocitolitica e fibrinolitica).

O estudo das numerosas amostras de estreptococos isolados foi feito comparativamente com outras do tipo hemolítico e patogênicas para o homem, as quais, quasi todas, estão incluídas no grupo sorológico *A* da classificação de Lancefield (31).

Os germes isolados de outras dermatoses bolhosas essenciais, pertencentes ao complexo grupo do Pênfigo, que tivemos oportunidade de observar, a título de comparação, mereceram igual tratamento.

Para o controle das pesquisas necróticas, exames bacteriológicos, nas mesmas condições técnicas, foram efetuados em cadáveres cujo óbito fora devido a outras doenças.

O presente trabalho é ainda precursor doutra série de estudos experimentais, muitos dos quais já iniciados por nós, referentes ao aspecto imuno-clínico do Pênfigo Foliaceo, em face dos estreptococos e de suas toxinas difusiveis. Não resta a menor dúvida que, dada a intervenção desse ubíquo grupo de germes na marcha evolutiva da dermopatia que constitue o objeto desta dissertação, um melhor conhecimento das reações imunitárias provocadas por êles no organismo dos penfigosos, com certeza oferecerá margem a numerosas pesquisas que, possivelmente, poderão facilitar o diagnóstico biológico e, talvez, fornecer as bases racionais para a tentativa de uma imunoterapia anti-estreptocócica específica, ativa ou passiva, ministrada isoladamente ou associada à quimioterapia.

A nossa tese será exposta por partes, de acôrdo com as diferentes fases do trabalho realizado, procurando-se seguir uma sequência previamente estabelecida, de modo a concatenar da melhor maneira os diversos temas a serem trata-

dos, bem como tornar menos fastidiosa a leitura de assuntos quasi que exclusivamente técnicos.

E' nossa intenção, e para isso faremos o possivel, procurar relacionar, à luz de fatos objetivos, os casos clinicos com os achados bacteriológicos.

As seguintes *abreviaturas* se verão nos quadros demonstrativos, gráficos e diagramas do nosso trabalho:

a = ano
ac = ligeira acidificação
Ac = acidificação
ACP = acidificação e coagulação parcial
ACT = acidificação e coagulação total
Am. = individuo de raça amarela
B = estado geral bom
Br. = branco
B. K. = Bacilos de Koch
B. subt. = *Bacillus subtilis*
CP = coagulação parcial
CR = coagulação total e redução completa
cr = coagulação parcial e redução incompleta
CT = coagulação total
DCG = dermatose crônica generalizada
Der. peric. = derrame pericárdico
Der. perit. = derrame peritoneal
Diplococos = diplococos Gram positivos não identificados
D. pn. = *Diplococcus pneumoniae*
DR = dermatose em regressão
FD = forma distrófica
F. fr. = forma frusta
F. G. = dermatose do tipo foliáceo generalizado
H. = dermatose do tipo hiperpigmentado
I. b. = dermatose na fase de invasão bolhosa.
intr. = via intra-dérmica
hem. = hemolítico ou hemólise
L = liquefação
M = estado geral mau
N = normal, fóra de observação
P = estado geral precário
Pd = pardo
per. = via peritoneal
Pr. = preto
Pr. amer. = *Proteus americanus*
Pr. vulg. = *Proteus vulgaris*
Ps. aer. = *Pseudomonas aeruginosa*
R = estado geral regular
S = sobreviveu
Staph. = *Staphylococcus*

| | | |
|---|---|---|
| Str. ind. | = | estreptococo indiferente |
| Str. hem. | = | estreptococo hemolítico |
| subc. | = | via sub-cutânea |
| tbc. | = | tuberculose pulmonar |
| tr. | = | via transocular |
| v | = | via venosa |
| x | = | estreptococos não classificados nos grupos sorológicos A, B e C. |
| + + + | = | numerosas colônias ou abundante crescimento bacteriano. |
| + + | = | frequentes colônias ou regular crescimento bacteriano. |
| + | = | raras colônias ou escasso crescimento bacteriano |
| 4 + | = | hemólise total |
| 3 + | = | hemólise franca |
| 2 + | = | hemólise fraca |
| 1 + | = | início de hemólise (traços) |
| † | = | morte. |

Além dessas, outras abreviaturas se encontrarão no decorrer da nossa exposição, facilmente compreensíveis.

Nos doentes de Pênfigo Tropical geralmente se observa um estado sub-febril vesperal, geralmente não ultrapassando de 38° (febre de supuração). Porisso o negrito, nos gráficos térmicos, indica temperaturas superiores a 37°5.

## CAPITULO IV

## CASOS CLÍNICOS

O presente estudo é o resultado de verificações bacteriológicas praticadas em 160 doentes de "Fogo Selvagem".

O material patológico constou de sangue, crostas e liquido de bolhas, provenientes de doentes em vários estádios clínicos e de sangue colhido por punção cardiaca, fragmentos de órgãos e liquidos orgânicos anormais conseguidos em necrópsias. A distribuição dos doentes, conforme classificação clínica, foi a seguinte:

| | |
|---|---|
| Fase de invasão bolhosa inicial ...................... | 36 |
| Formas generalizadas crônicas ...................... | 87 |
| Forma distrófica (dermatose generalizada) ........... | 15 |
| Forma frusta (dermatose localizada) ................. | 12 |
| Forma de regressão ................................ | 8 |
| Caso curado, sem sequelas da dermatose ............. | 1 |
| Caso curado, com sequelas da dermatose ............. | 1 |

Incluimos como formas generalizadas crônicas, para maior facilidade de exposição, os seguintes tipos clínicos da classificação de Vieira: a) forma gran-

demente bolhosa; b) intensamente foliacea; c) pústulo-bolhosa; d) hiperpigmentada; e) eritrodérmica; f) herpetiforme; e g) papilomatosa ou verrucosa.

Ainda tivemos a oportunidade de estudar outras dermatoses bolhosas primitivas, a título comparativo, como já referimos, sendo 5 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring, 1 caso de Pênfigo Vegetante (Moléstia de Neumann) e 1 caso de Pênfigo Agudo Febril, realizando-se exames bacteriológicos de sangue, crostas e liquido de bolhas.

Em regra, os doentes foram trabalhados logo em seguida ao seu internamento hospitalar ou na sua primeira consulta no nosso ambulatório, antes de ser iniciado qualquer tratamento. E' oportuno referir que não nos foi dado observar doentes de Pênfigo Foliaceo com menos de 1 mês de doença. Geralmente os individuos acometidos de Pênfigo são oriundos das zonas rurais do Estado, gente de baixo nivel de instrução e de hábitos higiênicos rudimentares, que somente procuram assistência médica quando seus padecimentos se agravam, de modo a causar apreensão ou temor.

Sempre, no momento da colheita de material, avaliava-se, após informação médica e exame clinico efetuado no dia, o estado geral dos doentes e tomava-se a temperatura axilar. Êste estado foi classificado, obedecendo à seguinte distinção:

a) *Precário*: Doente impossibilitado de qualquer movimentação; estado de nutrição péssimo; extrema caquexia; mucosas descoradas; membros superiores e inferiores em flexão permanente sôbre o corpo; fácies de grande sofrimento; aspecto senil; depressão da atividade psiquica; dermatose generalizada.

b) *Mau*: Doente ao qual é possivel sentar-se no leito e caminhar apoiado em outra pessoa, embora com grande dificuldade; estado de nutrição mau; caquexia adeantada; mucosas descoradas; flexão dos membros superiores e inferiores sôbre o corpo, mas sendo possivel a extensão dos mesmos; fácies de grande sofrimento; aspecto senil; nitidês da inteligência; dermatose generalizada.

c) *Regular*: E' o estado geral que a maioria dos penfigosos apresenta: caminham com dificuldade mas sem qualquer apoio, apresentando a marcha típica anti-álgica; preferem manter os membros superiores e inferiores em flexão sôbre o corpo; estado de nutrição deficitário; fácies angustioso; aspecto senil; inteligência integra; dermatose generalizada, podendo haver pequenas zonas de epidermização.

d) *Bom*: Estado de nutrição bom; o doente caminha normalmente; decúbito indiferente; inteligência normal; dermatose com tendência à regressão ou apenas localizada.

## CAPITULO V

## EPIDERMOCULTURAS

### A) CASOS ESTUDADOS

Realizamos exames bacteriológicos de eflorescências cutâneas em 55 casos com formas iniciais, crônicas e de regressão. Examinamos também dois casos curados: um há mais de dois anos, sem sequelas da dermatose, constando o material colhido de pele normal, retirada por escarificação, e outro, curado há mais de cinco anos, com sequelas da dermatose, tendo sido colhido material de lesões papilomatosas. Ainda tivemos oportunidade de retirar material patológico em 5 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring e em um caso de Pênfigo Agudo Febril.

De acôrdo com a classificação clínica, os doentes de Pênfigo estudados, foram distribuidos do seguinte modo:

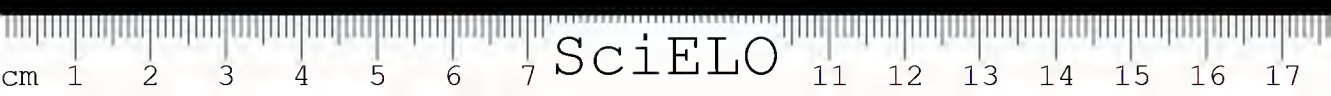
| | |
|---|---|
| Fase inicial de invasão bolhosa ...................... | 16 |
| Formas generalizadas crônicas ........................ | 21 |
| Forma frusta (dermatose localizada) ............... | 8 |
| Forma de regressão ................................ | 8 |
| Caso curado, sem sequelas da dermatose ............. | 1 |
| Caso curado, com sequelas da dermatose ............. | 1 |

Incluimos os casos de forma distrófica estudados entre as generalizadas crônicas, por não haver grandes diferenças entre a flora cutânea delas, segundo nossas verificações.

Nos casos aqui mencionados fizemos, em geral, mais de uma epidermocultura e sempre tivemos o cuidado de colher material de mais de um elemento cutâneo. Assim, exemplificando, de um caso crônico com a dermatose generalizada, em recrudescência bolhosa, que apresentava bolhas límpidas e várias purulentas, colhemos separadamente material de várias bolhas límpidas e de várias purulentas, como também de crostas em diferentes zonas.

### B) CONDIÇÕES TÉCNICAS

Nos exames bacteriológicos de lesões tegumentares, levamos em consideração certos cuidados que reputamos indispensaveis para a uniformização técnica e para afastar, quanto possivel, causas de erro decorrentes da própria natureza do exame. Êsses preceitos são, em linhas gerais, os seguintes:

1) — Os cuidados de assepsia não devem ser desprezados, tendo-se o maior zelo na obtencão do material, de modo a evitar contaminações adventicias.

2 — Os utensilios e instrumental de exame devem estar esterilizados e as mãos do operador devem ser desinfetadas.

3 — Os doentes não devem ter feito qualquer tratamento externo. Caso contrário, o exame só deve ser realizado depois de 48 horas, proibindo-se qualquer aplicação medicamentosa e evitando-se, até mesmo, o banho de imersão em água comum, neste período.

4 — O material deve ser colhido em lesões de recente formação.

5 — As semeaduras nos meios de isolamento devem ser efetuadas dentro do menor espaço de tempo após a colheita.

6 — O material deve ser colhido em sala fechada, ao abrigo de correntes de ar, com a presença apenas do operador e auxiliar.

### C) MATERIAL COLHIDO

1) — *Bolhas.* Somente se colhe material de bolhas intactas, não dilaceradas e de recente formação. Interessa-nos, no presente trabalho, tanto as bolhas de líquido límpido e citrino, quanto ás de líquido turvo e purulento. A colhêita é feita separadamente. A técnica de extração do líquido flictemar consiste na sua aspiração com seringa ou com pipeta de Pasteur. Sendo a quantidade obtida pequena, deve-se efetuar imediatamente a diluição do material em caldo glicosado para as respectivas semeaduras. A agulha de punção não deve ser de calibre muito reduzido, porque, si se trata de líquido purulento, há a possibilidade de sua retenção na luz da agulha. A desinfecção é praticada com tintura de iodo, retirando-se o excesso com álcool absoluto e esperando-se a evaporação dêste, a-fim-de evitar que possa ter alguma ação sôbre a vitalidade dos germes.

2) *Crostas.* As crostas, escamas e retalhos epidérmicos são colhidos em locais de recente rutura de bolhas ou em zonas de bolhas flácidas de invasão excêntrica. Não existindo bolhas macroscópicas, colhe-se o material que reveste lesões exsudativas. Habitualmente não praticamos a desinfeção local. A desinfeção é relativa e pode ser feita com salina fisiológica esteril, por pensos demorados ou lavagens com gaze esteril. O material sólido, chegado ao laboratório, é desintegrado em gral esteril por trituração, dissolvido em caldo-glicosado e emulsionado por meio de pipeta de Pasteur, depois do que são realizadas as semeaduras nos meios indicados.

3) *Punção em base de bolhas.* Após a desinfeção cuidadosa da bolha escolhida e do tecido circundante, introduz-se na sua base uma agulha hipodérmica montada em seringa de tuberculina, contendo 0,1 a 0,3 $cm^3$ de caldo-glicosado. A introdução da agulha deve ser feita lentamente e a transfixação da pele da maneira mais superficial. O caldo-glicosado é injetado vagarosamente, movimen-

tando-se a seringa em várias direções, de modo a espalhá-lo uniformemente. Aspira-se a seringa várias vezes, procurando-se variar a direção da agulha. O líquido obtido (serosidade + caldo) geralmente é quasi nulo, permanecendo muita vez na luz da agulha. Lava-se a seringa várias vezes com caldo-glicosado, no próprio tubo que servirá para as semeaduras iniciais. Procura-se, dêste modo, aproveitar todo material. Todos êsses movimentos são feitos de modo a não se romper a bolha. Na forma frusta, sem bolhas, transfixamos a pele sã no limite dos bordos de lesões eritêmato-escamosas, injetando caldo-glicosado e praticando os exames nas mesmas condições.

### D) SEMEADURAS

Utilizamos como meios de cultura agar-sangue, agar-simples, meio de Teague em placas (meio seletivo para Gram negativos), caldo-glicosado, caldo-sôro e meio de Tarozzi (anaeróbio) em tubos. Após 24-48 horas de incubação em estufa a 37° faz-se a primeira verificação, isolando-se todas as bactérias que germinem, para proceder à sua identificação. No caso de não resultar crescimento, os meios semeados são conservados na estufa a 37° por um espaço mínimo de 8 dias, após o que se negativa qualquer resultado. Nossa intenção, como já acentuamos, é somente estudar os chamados germes piógenos (estafilococos, estreptococos, bacilo piociânico, *Proteus*, difteróides e colibacilo), daí o emprego de um número limitado de meios de cultura, visto que, qualquer dessas bactérias, tidas como produtoras mais comuns de pus, serem de facil isolamento.

A quantidade de *inoculum* varia naturalmente com a sua origem. Tratando-se de material proveniente de bolhas límpidas, geralmente amicrobianas, semea-se com prodigalidade. Já com material originário de bolhas purulentas ou de crostas, onde a flora bacteriana é abundante, tomamos certas precauções técnicas nas semeaduras: ou espalhando o material em mais de uma placa ou diluindo-o antes em caldo-glicosado, a-fim de obter crescimento não confluente, facilitando a pesca e isolamento das colônias bacterianas.

### E) RESULTADOS

#### a) **Epidermoculturas dos casos de Pênfigo Foliaceo**

Dos 53 casos estudados, 43 apresentavam estreptococos nas lesões, ou seja uma percentagem de 81,1%. Excluimos, dêste calculo, os 2 casos curados.

Tal avaliação numérica da infecção estreptocócica externa é falha, levando-se em consideração a multiplicidade das formas clínicas, diferentes quanto à morfo-

logia e distribuição das lesões cutâneas e quanto ao estado geral apresentado pelos doentes. E' mesmo bastante dificil uma interpretação geral e preferimos analisar cada uma delas de "per si", procurando salientar os casos mais típicos, em grupos de 5 doentes, para maior facilidade de exposição.

### 1. Fase de invasão bolhosa.

QUADRO I

| No. | Nome No. Obs. | Idade | Cor | Inicio da molestia | Estado Geral | Bolhas liquido limpido | Bolhas liquido turvo (purulento) | Punção em base de bolha | CROSTAS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 409 | P.L.R. 543 | 34 a. | Pr. | 1 m. | Reg. | Aus. cresc. bacteriano | *Strept. hemol.* *Staph aureus* | Aus. cresc. bacteriano | — |
| 426 | M.M.A. 547 | 15 a. | Br. | 1 m. | Bom | Aus. cresc. bacteriano | *Strept hemol.* *Staph. albus* | Aus. cresc. bacteriano | — |
| 545 | I. L. 575 | 36 a. | Pd. | 1 m. | Reg. | Aus. cresc. bacteriano | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* | Aus. cresc. bacteriano | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* *Bacillus* sp. |
| 492 | J. M. 560 | 18 a. | Br. | 4 m. | Bom | *Staph. aureus* | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* | Aus. cresc. bacteriano | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* |
| 387 | I. J. 539 | 36 a. | Br. | 6 m. | Reg. | Aus. cresc. bacteriano | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* | Aus. cresc. bacteriano | — |

Constitue um grupo de doentes que apresenta resultados uniformes.

No Quadro I apresentamos 3 doentes em que a dermatose começara um mês antes e 2 que ainda estavam na fase de invasão, quatro e seis meses depois do inicio da doença. Êsses dois últimos casos servem para demonstrar que, mesmo com um periodo prolongado de invasão bolhosa, não há modificações muito evidentes da flora bacteriana.

Os líquidos de bolhas límpidas são geralmente amicrobianos. Apenas uma vez, em 12 casos, foram isolados *Staphylococcus aureus*. Nunca conseguimos isolar estreptococos.

No líquido de bolhas purulentas os estreptococos do grupo hemolitico estão sempre presentes, associados a estafilicocos acromogênicos e cromogênicos. A ausência de outros germes piogênicos demonstraram sempre a primazia dos estreptococos e estafilococos na infecção dos elementos bolhosos.

Nos exames de crostas, colhidas em lesões exsudativas (geralmente bolhas flácidas dilaceradas), sempre foi possivel isolar estreptococos do grupo *beta* (hemolíticos), como tambem outras bactérias, cuja frequência obedece, respectivamente, esta disposição: *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacilus* sp. *Corynebacterium* sp. e uma única vez *Escherichia coli*. Todos os estreptococos

isolados pertenciam ao grupo hemolitico com excepção de um único caso em que isolamos *Streptococcus* do grupo *gama* (indiferentes). Em todos os casos em que foram insulados estreptococos hemolíticos a dermatose se generalizou. No doente em que obtivemos estreptococos inertes houve uma repressão rápida da dermatose. Vamos resumir a sua observação clinica:

J. T. V., observação 436, 25 anos, branco (Figs. 1 e 2).

| Data | Exame clínico e estado geral | Exame bacteriológico de crostas | Hemoculturas e hemograma |
|---|---|---|---|
| 8-1[illegible]-40 | A molestia teve inicio há 8 meses, na região anterior do pescoço, em consequencia de ferimento (sic). Após 5 meses, a dermatose alastrou-se pelo torax anterior e posterior, abdomen, membros sup. e inf.. Refere-se a surtos febris, dôres musculares e sensação de frio. Nickolsky positivo. Fase de invasão bolhosa (bolhas flácidas dilaceradas e crostas melicéricas). Estado geral regular. Fácies de sofrimento (Fig. 1). | Isolados *Streptococcus* indiferentes e *Staphylococcus albus*. | Hemocultura negativa. Hemograma: neutrofilia com desvio intenso para a esquerda. Eosinopenia ([illegible]%). Linfopenia (8%). Granulações tóxicas nos neutrófilos. Encontradas 2 células de irritação de Türk. Plaquetose |
| 9-4-41 | Alta com regressão (Fig. 2). O tratamento consistiu em injeções intravenosas de brometo de estrôncio e quinino, por via oral, nos 3 primeiros meses de internamento, enquanto acusou febre vesperal ligeira (nunca acima de 37,8°). Depois não teve mais febre e começou a apresentar sensiveis melhoras. | | Hemograma: Leucócitos, 135.000. Hemátias, 4.500.000. Hemoglobina, 97%. Neutrofilia com desvio para a esquerda. Eosinófilos em número normal (3,4%). Linfopenia (9%). Ausência de elementos anormais nas séries branca e vermelha. Plaquetos . |

A punção em base de bolhas, nos casos em que a fizemos, deu resultado negativo.

Em conjunto, a presença de estreptococos, na fase de invasão bolhosa, foi:

Presença de estreptococos em líquido de bolhas limpidas = 0%.

Presença de estreptococos em liquido de bolhas purulentas e em crostas = 100%.

2. **Formas generalizadas crônicas** (Quadros II, III e IV).

Os estreptococos do grupo *beta*, nos doentes com dermatose generalizada, estão sempre presentes no líquido de bolhas purulentas e nas crostas. No material purulento colhido em 10 casos, os estreptococos hemoliticos foram isolados em cultura pura ou associados a estafilococos brancos e dourados, não se

isolando outras bactérias. Nos exames de crostas de 21 casos, os estreptococos hemolíticos estiveram sempre presentes, acompanhados de outros germes, os quais se destacam, na seguinte ordem de frequência: *Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus, Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp. (difteróides) e de um caso de *Diplococcus pneumoniae.*

Nos 6 casos em que existiam bolhas de líquido citrino e de recente formação, duas vezes obtivemos estreptococos hemolíticos em cultura pura. Não isolamos estafilococos.

Fig. 1
J. T. V., obs. 463, na data de seu internamento. Caso inicial de invasão bolhosa.

Fig. 2
J. T. V., obs. 463. Regressão das lesões cutâneas depois de 6 mêses.

Com tais resultados, êsse grupo de doentes, numa análise panorâmica, aparenta possuir uma flora bacteriana uniforme, parecendo não haver possibilidade em se retirar quaisquer dados que possam ser relacionados com o quadro clinico. Entretanto, numa análise mais profunda, conjugando os resultados dos exames bacteriológicos das lesões cutâneas com os das hemoculturas e de outros exames, particularmente dos casos em que foram isolados estreptococos em cultura pura de líquido de bolhas, é possivel entrever dados que se coadunam perfeitamente com a gravidade dos casos clínicos.

Quadro II

DERMATOSE GENERALIZADA

Exame bacteriológico de bolhas purulentas, com crescimento de *Strept. hemol.* em cultura pura

| No. | Nome No. Obs. | Idade | Côr | Inicio da molestia | Estado geral | Bolhas liquido limpido | Bolhas liquido turvo (purulento) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 153 | M.L.A. 462 | 18 a. | Br. | 2 m. | Mau | *Strept. hemol.* | *Strept. hemol.* |
| 496 | A. D. 508 | 23 a. | Pr. | 8 m. | Mau | *Strept. hemol* | *Strept. hemol.* |
| 330 | A. V. 463 | 27 a. | Br. | 9 m. | Mau | — | *Strept hemol.* |
| 18 | P. S. 419 | 6 a. | Br. | 1 a. | Reg. | — | *Strept. hemol.* |
| 276 | A.P.S. 271 | 30 a. | Pr. | 8 a. | Reg. | — | *Strept. hemol* |

Procuremos interpretar os casos reunidos no Quadro II, fazendo um resumo de suas observações clinicas e dos exames subsidiários que nos interessam:

M. L. A., observação 462, 18 anos, branca (Gráfico 1)

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico do liquido de bolhas | Hemocultura |
|---|---|---|---|
| 11-1-41 | Doente há 3 meses, inicio por lesões bolhosas na face anterior do tórax. Ao fim de 1 mês a dermatose se generalizou. Apresenta atualmente dermatose generalizada do tipo amplamente bolhoso. Estado geral precário. Queixa-se de cefaléia e mialgias intensas. Inapetência absoluta. Caso gravíssimo, de máu prognóstico. | Isolados estreptococos hemolíticos em cultura pura de bolhas limpidas e purulentas. | Negativa. |
| 28-1-41 | Faleceu às 17,50 hs. A temperatura na última semana antes da morte atingiu a 40° (Gráfico) 1). | | |

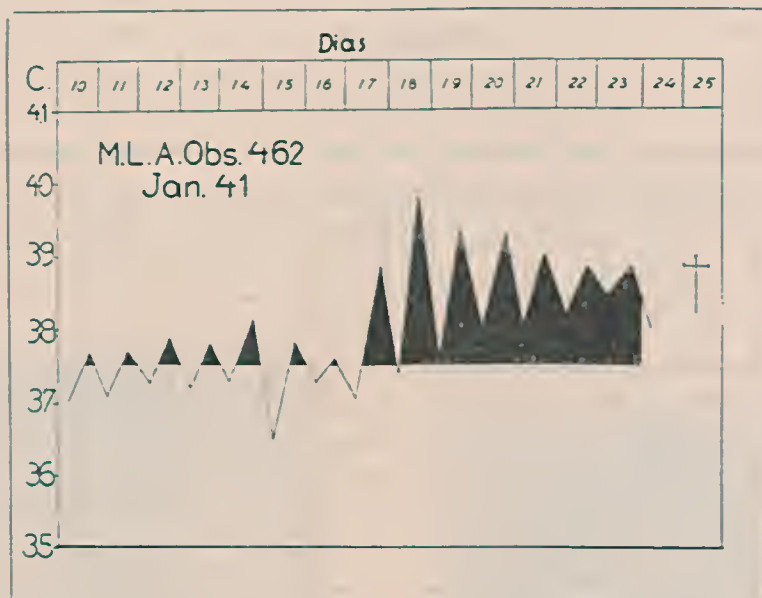



GRÁFICO 1
M. L. A., obs. 462

A. D., observação 508, preta, solteira, 23 anos. (Figs. 3 e 4, Gráfico 2).

| Data | Exame clínico | Exame bact. do liq. de bolhas | Hemoculturas | Outros exames |
|---|---|---|---|---|
| 1-10-41 | Doente há 7 mêses; início por bôlhas pruriginosas no tórax. Apresenta atualmente lesões crostosas circunscritas nas regiões malares; numerosas bôlhas de liquido límpido, isoladas, com tendência à confluencia e lesões crostosas, com aspecto de arquipélago cartográfico, nos tóraxes anterior e posterior e membros superiores. Da cintura para baixo a pele está isenta de lesões. Afebril. Nickolsky positivo. Sulfanilamida por via oral deu bom resultado. Diag.: Forma frusta (Fig. 3). | Ausência de crescimento bacteriano em material colhido de bolha límpida de formação recente. Não possuía bolhas de liquido purulento. | Negativa. | |
| 1-12-41 | Repentinamente, a dermatose assumiu um aspecto grave. Recrudescência bolhosa intensa após aplicação de sôro anti-escarlatinico (6 ampôlas de 20 cm³). Removida imediatamente para o Hospital do Isolamento de Campinas, em vista do agravamento do estado geral. | | | |

| Data | Exame clinico | Exame bact. do liq. de bolhas | Hemoculturas | Outros exames |
|---|---|---|---|---|
| 11-2-42 | Internada no Serviço do Pênfigo. Tipo foliáceo generalizado. Estado geral máu. Temperatura 38° (tarde). (Fig. 4 e Gráfico 2 — Temperatura da hora da colheita de material assinalada com séta). | Ausência de crescimento bacteriano em bolhas limpidas. Em bolhas de liquido turvo crescimento de *Strept. hem.* e *Staph. albus.* | Positiva para *Streptococcus* do grupo hemolitico. | Hemograma: Leucócitos 6.200. Hemátias 4.200.000. Hemoglobina 69 %. Desvio para a esquerda dos neutrófilos. Eosinófilos (25,5%). Granulações tóxicas nos neutrófilos. |
| 21-2-42 | Hipertermia a 40°. Surto bolhoso intenso e generalizado. Estado geral máu. (Gráfico 2, temperatura da hora da colheita de material assinalada com séta). | *Strept. hem.* em cultura pura em bolhas limpidas de recente formação e em bolhas de liquido turvo. | Positiva para *Streptococcus* do grupo hemolitico. | |
| 6-6-42 | Hipertermia a 37,9°. Continua em fase de recrudescência bolhosa. Estado geral máu. | Ausência de crescimento bacteriano em bolhas de liquido limpido de recente formação. | Negativa. | |
| 25-2-43 | Estado geral máu. Edema dos membros inferiores. Queixa-se de dores generalizadas. | | | Exame qualitativo de urina: Densidade 1022; albuminúria; cilindros hialinos e hialinos-granulosos, piócitos. |
| 5-3-43 | Piorou consideravelmente, com progressão da sintomatologia interna. | | | Exame hematológico: Leucócitos: 3600 mm³. Hemátias: 3.500.000 mm³. Hemoglobina 70% Valor globular 0,77. Neutrocitose tóxica com desvio degenerativo para a esquerda (degeneração nuclear, picnose, vacúolos citoplasmaticos); eosinopenia; linfopenia (predominância de linfócitos de citoplasma abundante e vacuolizados); monocitopenia. Hemátias hipocrômicas, anisocitose e peciloeitose. Plaquetose intensa. |

| Data | Exame clínico | Exame bact. do liq. de bolhas | Hemoculturas | Outros exames |
|---|---|---|---|---|
| 9-2-43 | Estado geral precário. Extrema caquexia. | | | Quimismo sanguíneo: Cloro plasmático = 393 mg %; cloro globular = 244 mg %; índice clorêmico = 0,57. Reserva alcalina = 50,7 vol. %. Soro-albumina = 4,7 g %; soro-globulina = 3.0 g %; proteínas totais = 7.7 g %; índice protêico = 1,5. |
| 6-3-43 | Em franca fase pré-agônica. Temperatura a 37° na colheita do sangue. Colhidos 500 cm³ de derrame pleural por punção. | | Hemocultura positiva para estreptococos hemolíticos. | |
| 11-3-43 | Faleceu às 10 hs 25. A hipertermia pré-mortal chegou a 40°2. Não pudemos fazer os controles bacteriológicos post-mortais. | | | |

Fig. 3

A. D., obs. 508, quando de sua 1.ª consulta.
Caso diagnosticado como fórma frusta.

Fig. 4

O mesmo caso da Fig. 3, quatro meses depois,
com a dermatose generalizada do tipo foliáceo.

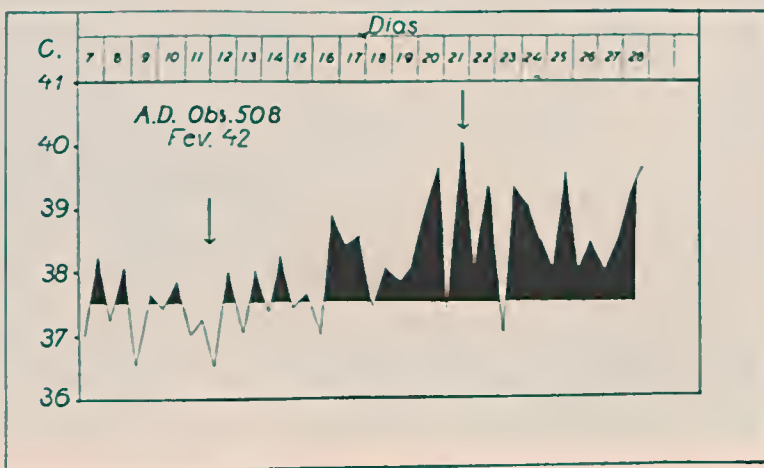



Gráfico 2

A. L. V., observação 463, 27 anos, branca. (Figs. 5 e 6)

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico de liquido de bolhas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 13-1-41 | A dermatose começou há 3 meses com lesões eritematosas generalizadas e muito febre. Há 1 mês surgiram lesões bolhosas no tórax anterior que se alastraram para o tórax post., cabeça, membros sup. e inf.. Atualmente lesões bolhosas circunscritas ao tórax anterior, cabeça e rosto. Febre, diariamente, acima de 38°. Dores musculares generalizadas. | | Hemocultura negativa. |
| 25-5-41 | Apresentou regressão quasi total das lesões. Alta hospitalar (Fig. 5). | | Hemocultura positiva para *Streptococcus hemolyticus*. Hemograma com desvio acentuado para a esquerda (neutrófilos metamielociticos e com nucleo bastonado aumentados numericamente). Neutrófilos com granulações tóxicas. |
| 17-6-41 | Internada novamente. Recidiva bolhosa violenta com generalização, acompanhada de febre alta, delirio e perda de conciência (Fig. 6). | | Hemocultura negativa |
| 18-6-41 | | | Exame bacteriológico do liquido céfalo-raquidiano negativo. |
| 7-8-41 | A dermatose se generalizou, evoluindo para o tipo foliáceo, com constantes recrudescências bolhosas. Est. geral regular. Ainda apresenta sintomas de conturbações mentais. | Numerosas colônias de estreptococos hemoliticos e raras de estafilococos *albus*, das bolhas purulentas. | Hemocultura negativa. |
| 2-2-41 | Estado geral máu. Recrudescência bolhosa violenta. Edema generalizado. | Numerosas colônias de estreptococos hemoliticos em cultura pura de bolha purulenta, de recente formação. Não tinha bolhas de liquido limpido. | Não foi possivel colher o sangue para hemocultura. |
| 22-1-42 | Faleceu às 14.40 hs.. | | Não foi feita necrópsia. |

Fig. 6

A mesma doente da Fig. 5. Recidiva bolhosa violenta da dermatose.

Fig. 5

A. L. V., obs. 463. Regressão quasi total das lesões cutâneas

P. S., observação 519, branco, 6 anos.

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico de liquido de bolhas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 2-10-40 | Há mais ou menos um ano começou a dermatose por lesões no couro cabeludo, com generalização rápida em 10 dias. Forma distrófica, com dermatose generalizada, do tipo foliáceo. Apresentou desde o inicio da moléstia parada do crescimento. Atrazo mental e psiquico. Magreza hipofisária. Nanosômico e microgenitosômico. Infantilismo. | Presença de estreptococos hemoliticos em cultura pura. | Hemocultura negativa. |
| 3-4-42 | Faleceu às 10,45 hs.. Não foi feita a necrópsia. | | |

A. P. S., observação 271, preta, 30 anos (Fig. 2).

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico de liquido de bolhas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 13-.1-40 | Doença há 8 anos, começando por bolhas na região anterior do tórax, generalizando-se em poucos mêses. Atualmente condições gerais boas, com bom estado de nutrição. Surtos bolhosos frequentes e generalizados. Hiperpigmentada. Seios desenvolvidos. Amenorréia desde o inicio da doença. | | Hemocultura negativa. |
| 15-5-41 | Surto bolhoso violento. Entretanto, o estado geral da doente continua bom, levando vida normal e até mesmo auxiliando os trabalhos de enfermaria. Febre vesperal não ultrapassando de 37°. | Somente existem bolhas purulentas. Isolados estreptococos hemoliticos em cultura pura. | Hemograma: Ligeira anemia hipocrômica. Desvio para a esquerda pouco intenso. Eosinofilia. (16%). |

Como se vê, os casos em que isolamos estreptococos hemoliticos em cultura pura do liquido de bolhas, são geralmente graves e de mau prognóstico. Existem exceções, a exemplo da doente A. P. S. (observação 271), cujo estado geral vem se mantendo regular até a presente data (Fig. 7).

No Quadro III estão incluidos os casos mais comuns no Pênfigo Tropical: são os do tipo foliaceo com o estado regular. Os penfigosos que selecionamos são todos mais ou menos idênticos e escolhemos de propósito aqueles nos quais a dermatose iniciou-se recentemente, antes de um ano de doença. Nada há de particular em tais doentes, a não ser o curioso achado de *Diplococcus pneumoniae* no exame No. 320 (observação 497). Este doente e o do exame No. 504 (observação 562) faleceram pouco tempo depois de internados.

FIG. 7
A. P. S., obs. 271 — Estado geral bom.

QUADRO III

DERMATOSE GENERALIZADA

Casos com hemocultura negativa. Ex. bacteriológico de crostas

| No. | Nome No. Obs. | Idade | Côr | Inicio da molestia | Estado Geral | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 504 | A. N. 562 | 24 a | Br. | 5m. | Reg. | *Strept. hemol.*<br>*Staph. albus*<br>*Corynebacterium* sp. | Faleceu |
| 443 | V. C. 549 | 31 a. | Pr. | 5 m. | Reg. | *Strept. hemol.*<br>*Staph. albus* | |
| 407 | M. C. P. 542 | 52 a. | Br. | 6 m. | Reg. | *Strept. hemol.*<br>*Staph. albus* | |
| 320 | F. A. P. 497 | 36 a. | Pd. | 7 m. | Reg. | *Strept. hemol.*<br>*Staph. albus*<br>*Dipl. pneumoniae* | Faleceu |
| 336 | P. R L. 473 | 35 a. | Br. | 10 m. | Reg. | *Strept. hemol.*<br>*Staph. albus*<br>*Staph. aureus* | Faleceu |

Fig. 8

Detalhe de lesões penfigosas do tipo foliáceo (eritrodermia esfoliativa) em uma mulher doente há dois anos. Observar atrofia mamária.

Do tipo foliaceo generalizado e do tipo distrófico-foliaceo, com hemoculturas positivas para *Streptococcus* do grupo *beta*, são os doentes apresentados no Quadro IV. Nota-se que a maioria já morreu e que a dermatose se iniciara há muitos anos. Observa-se também que a flora cutânea se compunha de estreptococos hemolíticos e de estafilococos brancos e dourados, sem haver associação com outras bactérias piógenas. Êste grupo de doentes será alvo de comentários especiais no capítulo dedicado às hemoculturas.

## Quadro IV

### DERMATOSE GENERALIZADA

Casos com hemocultura positiva para *Strept. hemol.* Exame bacteriológico crostas

| No. | Nome No. Obs. | Idade | Côr | Início da moléstia | Estado Geral | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 16 | E. P. 264 | 22 a | Pd. | 4 m. | Precário | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* *Staph. albus* | Faleceu |
| 307 | C.F.L. 193 | 30 a. | Pd. | 2 a. | Mau | *Strept. hemol.* *Staph. albus* | Faleceu |
| 483 | B. T. 478 | 13 a. | Pd. | 7 a. | Reg. | *Strept. hemol.* *Staph. albus* | |
| 17 | N. P. 58 | 14 a. | Br. | 7 a. | Mau | *Strept. hemol.* *Staph. albus* | Faleceu |
| 44 | G. S. 301 | 56 a. | Br. | 7 a. | Mau | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* *Staph. albus* | Faleceu |

Todos êsses fatos demonstram, nitidamente, que nas formas generalizadas crônicas — inclusive as do tipo foliáceo — há predominância de estreptococos na infecção cutânea, tanto nos casos em que a dermatose era de generalização recente, quanto nos de evolução mais longa.

A percentagem da incidência de estreptococos hemolíticos, foi a seguinte:

Presença de estreptococos em bolhas purulentas e em crostas: 100%.

Presença de estreptococos pura em bolhas de liquido citrino: 33,33%.

3. **Forma frusta** (Quadro V).

Na forma frusta não há uma infecção estreptocócica cutânea intensa, como nas três formas clinicas já estudadas. A estreptococodermia existe na minoria de doentes. Das 8 casos examinados, apenas dois mostraram a presença de estreptococos: uma das amostras isoladas pertencia ao grupo *gama* (inerte) e a outra ao grupo *beta* (hemolítico). Dos casos restantes, foram isolados estafilicocos *albus* ou *aureus;* ausência de outros germes.

Quadro V

FORMAS FRUSTAS

Exame bacteriológico de crostas

| No. | Nome No. Obs. | Idade | Côr | Inicio da molestia | Estado Geral | Crostas | Punção base lesão |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | E. M. 426 | 21 a. | Br. | 5 m. | Bom | *Staph. albus* | — |
| 436 | J. R. 524 | 23 a. | Br. | 10 m. | Bom | *Staph. albus* | Ausencia crescimento bacteriano |
| 559 | J. M. 577 | 19 a. | Br. | 1 a. | Bom | *Strept.* indiferente *Staph. albus* | Ausencia crescimento bacteriano |
| 555 | J. G. 576 | 21 a. | Br. | 4 a. | Bom | *Staph. aureus* | Ausencia crescimento bacteriano |
| 468 | E. S. 460 | 25 a. | Br. | 7 a. | Bom | *Staph. albus* | — |

Vejamos a observação do doente em que foi possivel o isolamento de estreptococos do grupo *gama*:

J. M., observação 577, branco, 19 anos, russo (Figs. 9 e 10).

| Data | Observação clínica e estado geral | Ex. bact. de crostas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 12-5-42 | Começou há 1 ano com manchas eritematosas no rosto e tórax ao mesmo tempo. Nunca teve bolhas. A evolução foi lenta. No rosto a disposição das lesões é atípica: não assumiu o aspecto em vespertilio na região malar, sendo as lesões situadas, principalmente na fronte (Fig. 9). No tórax (face anterior e posterior) o aspecto morfológico é também anormal: a dermatose não abrange a parte médio-toráxica (Fig. 10) (*). Estado geral bom. Sensações subjetivas externas mínimas. Nickolsky negativo. | Presença de estreptococos indiferentes e de estafilococos brancos. | Hemocultura negativa. Hemograma: ligeiro desvio para a esquerda. Eosinofilia intensa (18%). Exame de fezes: presença de ovos de *Necator*. |

Fig. 9

J. M., obs. 577 — Forma frusta. Disposição atípica das lesões do rosto.

(*) O Pênfigo Tropical atinge habitualmente no início as regiões de predileção da dermatite seborréica e do lupus eritematoso: na face (quasi sempre em vespetilio), nas regiões pre-esternal e inter-escapular. Na forma frusta esta disposição dermatológica também é regra.

Fig. 10
J. M., obs. 577 — Aspecto anômalo de lesões de forma frusta, não se confluindo para a parte médio-toráxica.

A evolução da dermatose no doente em que conseguimos estreptococos hemolíticos foi bastante interessante. Tratando-se de um caso de ambulatório, não tivemos oportunidade de examinar as crostas, quando em sua primeira consulta. Os dados clínicos e achados de laboratório, referentes a êsse doente, podem ser assim sintetizados:

P. E., observação 501, 48 anos, branco, brasileiro (Figs. 11 e 12).

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico de liquido de bolhas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 24-5-41 | Doente há 8 mêses. A dermatose começou no abdomen por bolhas pruriginosas e manchas avermelhadas. Depois progrediu para o tórax anterior e posterior. Notam-se lesões eritemato-exsudativas isoladas, com tendência à confluência, no tórax anterior e posterior e algumas esparsas, nos braços. Lesão eritêmato-escamosa em vespertilio no rosto. Nickolsky positivo (Fig. 11). | Não tem bolhas. | Hemocultura negativa. Hemograma: Leucócitos 5.900. Hemátias 4.660.000. Hemoglobina 83%. Ligeiro desvio para a esquerda. Eosinofilia percentual e em numeros absolutos por mm³ (10% e 590 mm³). Exame parasitológico de fezes: Presença de ovos de *Necator*. |

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico de liquido de bolhas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 23-2-42 | Voltou à consulta tendo peorado o seu estado cutâneo. O rosto está quasi todo invadido. A dermatose alastrou-se por quasi todo o tórax anterior e posterior. As nádegas, membros superiores e inferiores foram atingidas. Lesões eritêmato-exsudativas. Bolhas lenticulares com liquido citrino e purulento. As lesões são dolorosas, o que não acontecia anteriormente (Fig. 12). | Ausência de crescimento bacteriano das bolhas de liquido limpido. Numerosos estreptococos hemoliticos e raros estafilococos brancos nas bolhas purulentas. | |
| 7-4-42 | A dermatose continuou a progredir, tendo peorado o seu estado cutâneo e geral. Generalização das lesões e emagrecimento acentuado. Queixa-se de febre, insônia e cansaço. | | Hemocultura negativa. Hemograma: Leucócitos 8.100. Hemátias 5.100.000. Hemoglobina 90%. Ligeiro desvio para a esquerda. Eosinófilos em numero normal (4,5% e 364 mm³). Plaquetose. Exame parasitológico de fézes: negativo. |

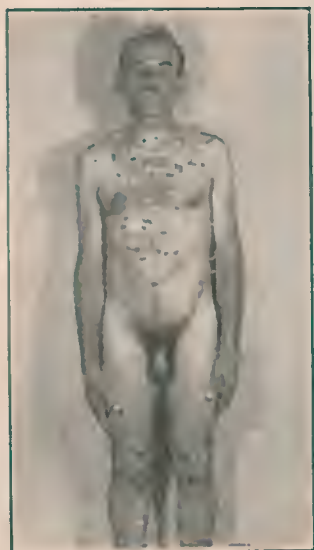



Fig. 11
P. E., obs. 501 — Lesões eritêmato-exsudativas e eritêmato-crostosas não confluentes.

Fig. 12
O mesmo doente da Fig. 11 — Progressão das lesões do pênfigo.

A doente A. D. (observação 508, quadro II e figs. 5 e 6), que incluimos e estudamos entre as formas crônicas generalizadas, foi fichada como caso frusto;

nessa ocasião, apresentava somente bolhas de liquido citrino, que repetidos exames bacteriológicos mostraram ser amicrobianas. Isolamos, dois meses depois, em surto bolhoso violento, estreptococos do grupo hemolitico. A generalização da dermatose foi rápida, tendo a doente falecido após 15 meses.

Seria possivel acreditar que nesses dois últimos doentes foi a presença do estreptococo hemolitico a responsavel pela generalização rápida da dermatose, como também, da transformação do quadro clínico de A. D.: de caso benigno localizado a caso do tipo foliáceo generalizado de mau prognóstico?

A punção dos bordos das lesões frustas, para exame bacteriológico, foi de resultado negativo, mostrando que as bactérias atingiam apenas as camadas superficiais da epiderme.

A presença de estreptococos, na forma frusta, expressa em algarismos foi·
Presença de estreptococos em lesões cutâneas: 25%.

a) Estreptococos hemoliticos .......... 12,5%
b) Estreptococos inertes .............. 12,5%

4. **Casos em regressão, com sequelas da dermatose** (Quadro VI):

Neste grupo de doentes os resultados continuam interessantes, mostrando a importância dos estreptococos na evolução do Pênfigo Tropical, mesmo na fase de regressão.

Quadro VI

DERMATOSE EM REGRESSÃO

Exame bacteriológico de crostas

| No. | Nome No. Obs. | Idade | Cor | Estado atual | Inicio da molestia | Inicio da regressão | Data do exame | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 599 | A.M.S 443 | 13 a. | Br. | Bom | Jun. 1940 | Jan. 1942 | Jun. 1942 | *Strept. hemol.* *Staph. albus* *Bacillus subtilis* | Lesões crostosas esparsas. De vez em quando surto bolhoso peq. intensidade. |
| 423 | L.C.T.B. 372 | 12 a. | Br. | Bom | Nov. 1937 | Nov. 1941 | Jan. 1942 | *Strept. hemol.* *Staph. albus* *Bacillus sp.* | Lesões crostosas esparsas. Recentemente pequeno surto bolhoso. |
| 422 | R. S. 247 | 23 a. | Br. | Bom | Set. 1929 | Abr. 1941 | Jan. 1942 | *Strept. hemol.* *Staph. aureus* | Lesões couro cabeludo. Recent. surto bolhoso membros inferiores. |
| 452 | O· S. 28 | 36 a. | Br. | Bom | — 1923 | — 1928 | Fev. 1942 | *Staph. albus* | Lesões crostosas membros inferiores. |
| 420 | E. F. 235 | 22 a. | Br. | Bom | Dez. 1932 | — 1937 | Jan. 1942 | *Staph. albus* | Lesões escamosas fugazes no tronco. |

Os 8 casos que examinamos de dermatóse em regressão tiveram Pênfigo generalizado. A percentagem da positividade de estreptococos foi de 62,5%. Os estreptococos hemolíticos continuavam a ser hóspedes da epiderme em cinco casos que ainda apresentavam surtos bolhosos de pequena intensidade e limitados a restritas áreas do tegumento externo. Em todos os convalescentes com estreptococos hemolíticos, a regressão se iniciou há menos de um ano, excetuando-se a doente N. P. O. (observação 192), que desde fins de 1939 apresentava acentuadas melhoras.

No Quadro VI escolhemos três casos positivos e dois negativos para estreptococos. Dos negativos — O. S. (obs. 28) e E. F. (obs. 235) — isolamos estafilococos *albus*, sendo os mais antigos dos estudados. O terceiro negativo, dêste grupo de 8 doentes e que não figura no Quadro VI é muito interessante e reservamô-lo para uma descrição mais pormenorizada e a sua observação pode ser resumida da seguinte forma:

M. L., observação 583, 33 anos, branca.

| Data | Exame clinico | Exame bacteriológico de crostas | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 6-6-42 | A dermatose começou há 5 meses por lesões bolhosas no tórax anterior. Ao fim de um mês houve generalização das lesões, sendo obrigada a guardar o leito por estar impossibilitada de qualquer movimentação. Há 45 dias a dermatose entrou em regressão. Lesões eritêmato-escamosas no rosto, ao nivel das regiões malares. Estado geral bom. | Isolados estafilococos do tipo *albus*. | Hemocultura negativa. Hemograma: contagens globais e dosagem de hemoglobina normais. Linfocitose percentual (39%). |

Vê-se, pois, que se trata de um caso de evolução rápida: generalização em um mês e regressão ao fim de 6½ meses. Não encontramos estreptococos nas crostas. Duas são as hipóteses a formular: 1.º — Não existiram estreptococos nas lesões durante todo o tempo da doença, como sucede na maioria dos casos de forma frusta; 2.º — Os estreptococos desapareceram da pele desde que a dermatose entrou em regressão. De qualquer maneira, parece-nos estar ligada à ausência do estreptococo hemolitico nas lesões atuais, a involução rápida e a benignidade do Pênfigo neste caso.

5. **Casos curados, com e sem sequelas da dermatose** (Figs. 13 e 14).

Seguindo o mesmo método de trabalho, colhemos material de dois indivíduos considerados clinicamente curados. Dos dois casos não isolamos estreptococos, tendo sido isolados estafilococos brancos e bacilos Gram positivos banais.

Registamos alguns dados relativos a êsses casos e o resultado das epidermoculturas:

A. A. branco, 24 anos, brasileiro, técnico de laboratório

| Data | Histórico da doença | Exame bacteriológico de sequela de lesões | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 25-7-42 | A doença iniciou-se em Fevereiro de 1930 por lesões eritemato-exsudativas do rosto e face anterior do tórax. Depois de dois meses apareceram numerosas bolhas no tórax e membros inf.. Logo em seguida o Pênfigo se generalizou, ficando impossibilitado de qualquer movimentação durante 5 meses. Esteve com a dermatose na forma crônica generalizada durante 6 anos. Nos últimos meses de 1936 a dermatose entrou em regressão, curando-se ao fim de um ano. A regressão se processou lentamente. Observam-se apenas manchas bipercrômicas, pardacento-escuras, de contornos e tamanbos irregulares, nas pálpebras, rosto, tórax ant. e post.: manchas semelhantes a efélides nos membros superiores; lesões papilomatosas, pardacento-escuras, circulares, de 2 cms. de diâmetro, com disposição simétrica no tórax ant. e irregular no tórax posterior. Altura, 1,78; peso, 65 Ks.. Hipogonadismo. | Material colhido das lesões papilomatosas: 1) Tórax anterior: crescimento de estafilococos *albus*. 2) Tórax posterior: crescimento de estafilococos *albus* e de bacilos Gram positivos. | Hemograma: Contagens globais e dos. de bemoblogina normais. Eosinofilia percentual e em numero absolutos por mm³ (11,5% e 517,5 mm³). Exame parasitológico de fezes: negativo. |

H. H. A., branco, 40 anos, brasileiro (Figs. 13 e 14).

| Data | Histórico da doença | Exame bacteriológico de pele normal | Outros exames |
|---|---|---|---|
| 20-6-42 | Adoeceu em Outubro de 1936, começando por mancha eritematosa na fronte, muito pruriginosa. A dermatose levou dois anos para se generalizar, mas as lesões nunca foram ligadas entre si, havendo entre elas ilhotas de pele normal. Em 1940, começou a regressão, estando hoje completamente curado e sem sequelas da dermatose (Figs. 13 e 14). | O material foi colhido por escarificação dos lugares onde a dermatose foi mais violenta: couro cabeludo, faces anterior e posterior do tórax. Foram isolados estafilococos *albus* e raros bacilos Gram positivos. | Hemograma: Contagens globais e dosagem de bemoglobina normais. Ligeira linfocitose percentual (32%), nas contagens diferenciais. |

FIG. 13
H. H. A., em 1939.

FIG. 14
O doente da figura anterior clinicamente curado (1942).

**b) Epidermoculturas em 4 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring**

A Dermatite Herpetiforme de Duhring é em nosso País afecção rara, pertencente ao grupo do Pênfigo e que se presta à confusão com o "Fogo Selvagem", no surto bolhoso inicial. O seu estudo obedeceu ao mesmo plano que havíamos elaborado para os doentes acometidos de Pênfigo Tropical.

QUADRO VII

CASOS DE DERMATITE DE DUHRING

Exame bacteriológico de líquido de bolhas

| No. | Nome No. Obs. | Côr | Idade | Estado Geral | Início da moléstia | Bolhas líquido límpido | Bolhas líquido turvo (purulento) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 200 | M. C. | Pr. | 8 a. | Bom | 1 m. | *Strept. hemol.* | *Strept. hemol.* |
| 476 | S.G.P. | Br. | 53 a. | Bom | 1 m. | Aus. cresc. bacteriano | *Staph. aureus* |
| 45 | J. A. 404 | Br. | 45 a. | Mau | 2 m. | Aus. cresc. bacteriano | *Staph. albus Strept. hemol.* |
| 323 | P.M.A. 527 | Br. | 36 a. | Bom | 2 a. | Aus. cresc. bacteriano | — |
| 354 | A. J. 523 | Br. | 32 a. | Bom | 2 a. | Aus. cresc. bacteriano | — |

Como se vê no Quadro VII, isolamos duas vezes estreptococos hemoliticos (J. A., obs. 576, Figs 22, 23 e M. C., Fig. 15). O primeiro dêsses doentes é um caso grave de Dermatite de Duhring, com repercussão renal, que atualmente atravessa uma fase silenciosa da dermatose; ocupar-nos-emos adiante, com o necessário desenvolvimento, de sua observação analítica, no capítulo referente às hemoculturas. Do segundo, tratando-se de um caso ambulatório, não tivemos noticias depois da consulta inicial.

Os doentes P. M. A. (observação 527) e A. J. (observação 523) são casos tipicos de Dermatite Herpotiforme, sem bolhas purulentas, tendo o exame bacteriológico do liquido de bolhas sido negativo.

O doente S. G. P. (Figs. 16, 17 e 18), em que foi possivel isolar *Staphylococcus aureus* do liquido de bolhas purulentas, é um caso interessante e ao mesmo tempo é muito elucidativo, no que se refere à evolução e localização da dermatose.

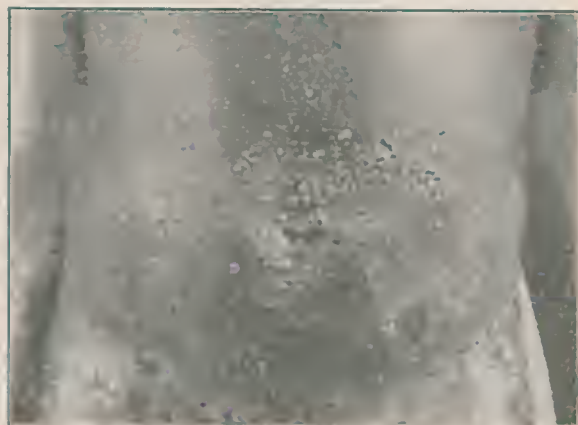



FIG. 15
M. C., caso tipico de Dermatite de Duhring.

Eis a sua observação:

S. G. P., branco, 54 anos, português (Figs. 16, 17 e 18).

| Data | Exame clinico | Liquido de bolhas | Outros exames |
| --- | --- | --- | --- |
| 24-2-42 | A dermátose começou com bolhas nas axilas há um mês. Em seguida apareceram novos elementos bolhosos no tórax anterior e face interna de ambas as coxas. Passou um desinfetante forte nas pernas, o que fez surgir as lesões com a intensidade que hoje apresenta. Atualmente notam-se numerosas bolhas de vários tamanhos, algumas bem vultuosas, nas axilas (Fig. 17) e face interna das coxas (Fig. 16) pernas, abdomen, região glútea e tórax anterior e posterior. Prescrição medicamentosa: repouso absoluto e regime alimentar hipotóxico e hipocloretado; banhos diários; esvasiamento das bolhas, seguido de pulverização com talco. Notar o fácies de sofrimento (Fig. 16). | Exame bacteriológico: Bolhas limpidas: resultado negativo. Bolhas purulentas: Crescimento de estafilococos dourados. Exame citológico de bolhas limpidas: Eosinofilia (27%). | Hemograma: Contagens globais: Hemátias 5.200.000 mm³. Leucócitos 8.700 mm³. Hemoglobina 96% e 15,4 g. Valor globular 0,9. Contagens especificas: Neutrofilia (77%), eosinopenia (1%), linfopenia (11%). Ligeiro desvio para a esquerda. Alguns neutrófilos com granulações tóxicas. Hemocultura negativa. |
| | Nos locais onde existiram bolhas ficaram manchas de cor avermelhada. Observam-se apenas algumas bolhas na face interna da coxa. Notar a diferença de postura e o fácies da Fig. 18. | | |

Fig. 16
S. G. P., surto agudo de Dermatite de Duhring.

Fig. 17
O mesmo doente da figura anterior. Bolhas e vesiculas na axila esquerda.

Fig. 18

S. G. P., 1 mês depois da 1.ª consulta.
Regressão quasi total das lesões.

### c) Epidermocultura em um caso de Pênfigo Agudo Febril

Trata-se de um caso violentíssimo e de desfecho rápido de Pênfigo Agudo Febril. A anamnese do doente não poude ser feita por estar em coma, tendo falecido três horas depois do internamento no Hospital. Fora acometido da moléstia somente há 15 dias e o seu aspecto no momento do exame era deveras lamentavel: ao lado de bolhas enormes, invadindo todo o corpo, notavam-se grandes descolamentos epidérmicos, pondo à mostra o tecido dérmico fortemente hiperemiado; aqueles retalhos eram enormes, alguns possuindo mais de um palmo de comprimento. As mucosas foram atingidas na cavidade bucal e nas fossas nasais, percebendo-se crostas escuras e sanguinolentas. Grande deshidratação. Posição anti-álgica tipica: membros superiores e inferiores em forte flexão. O exame bacteriológico de retalhos epidérmicos, colhidos em varias regiões do corpo, acusou crescimento de *Staphylococcus albus* e de bacilos Gram positivos (*Bacilus* sp.).

## CAPITULO VI

## HEMOCULTURAS

### A) CASOS ESTUDADOS

Só mesmo com grande número de casos agudos ou crônicos, sem qualquer seleção, seria possivel uma avaliação numérica mais exata da invasão e infecção da corrente sanguínea por germes piógenos, mormente pelo estreptococo, no Pênfigo Tropical. Daí, o número de doentes submetidos a hemoculturas, ser bem maior do que os que forneceram material para exames bacteriológicos de eflorescências cutâneas.

Foram praticadas hemoculturas em 150 doentes nos diversos estádios clínicos da moléstia. Dêsses, 52 pertenciam ao sexo masculino e 98 ao sexo feminino. Além dos indivíduos acometidos de "Fogo Selvagem", realizamos hemoculturas em 6 doentes com outras dermatoses bolhosas essenciais, sendo: um de Pênfigo Agudo Febril, um de Pênfigo Vegetante e 4 de Dermatite Herpetiforme de Duhring. O número total das hemoculturas atingiu a 250, incluidas as de controle, as contaminadas e as que julgamos conveniente repetir por motivos técnicos (confirmação do resultado ou devido ao estado geral e quadro térmico apresentado pelos doentes).

Os casos estudados estavam classificados dentro das seguintes fases ou formas clinicas:

Quadro VIII

HEMOCULTURAS EM 150 CASOS DE PÊNFIGO FOLIACEO

| No. | Iniciais e No. Observação | Idade | Côr | Temperatura | | Estado Geral | Início da Molestia | Forma clínica | Resultado |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Tarde (Véspera) | Manhã (Colheita) | | | | |
| 1 | M. C. J. — 468 | 29 a. | Br. | 37,9 | 37,0 | R. | 1 mês | I. b. | Negativo |
| 2 | S. D. — 540 | 14 a. | Br. | 38,2 | 36,8 | R. | 1 mês | I. b. | Negativo |
| 3 | M. M. — 547 | 15 a. | Br. | — | — | R. | 1 mês | I. b. | Negativo |
| 4 | I. L. — 575 | 36 a. | Pd. | 37,0 | 37,3 | R. | 1 mês | I. b. | Negativo |
| 5 | J. G. — 576 | 21 a. | Br. | 36,9 | 36,2 | B. | 1 mês | F. Ir. | Negativo |
| 6 | D. F. — 476 | 14 a. | Br. | 37,2 | 36,5 | R. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 7 | F. A. P. — 497 | 33 a. | Pr. | 36,8 | 36,8 | R. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 8 | M. L. A. — 462 | 18 a. | Br. | 37,8 | 37,2 | P. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 9 | R. B. — 551 | 58 a. | Br. | 37,8 | 37,0 | M. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 10 | J. M. — 560 | 18 a. | Br. | 37,4 | 36,6 | B. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 11 | A. M. S. — 584 | 61 a. | Br. | — | — | B. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 12 | M. A. S. — 587 | 13 a. | Br. | — | — | R. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 13 | P. L. R. — 543 | 34 a. | Pr. | 39,7 | 38,2 | R. | 2 meses | I. b. | Negativo |
| 14 | A. M. — 425 | 24 a. | Pr. | 37,7 | 36,8 | R. | 3 meses | D. C. G. | Negativo |
| 15 | H. P. L. — 256 | 27 a. | Br. | 37,5 | 36,8 | R. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 16 | E. P. — 264 | 22 a. | Pr. | 39,5 | 39,5 | M. | 3 meses | D. C. G. | *Strept. hem. vi.* |
| 17 | M. P. — 433 | 13 a. | Br. | 37,0 | 36,8 | R. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 18 | M. B. — 456 | 20 a. | Pd. | 37,5 | 36,8 | R. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 19 | M. A. — 442 | 19 a. | Br. | 37,0 | 37,6 | M. | 3 meses | D. C. G. | Negativo |
| 20 | G. R. J. — 474 | 28 a. | Br. | 37,8 | 36,5 | R. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 21 | M. C. — 453 | 19 a. | Br. | 37,8 | 37,0 | R. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 22 | J. E. C. — 500 | 18 a. | Pr. | 37,6 | 36,7 | R. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 23 | M. C. R. — 536 | 29 a. | Br. | 39,5 | 37,0 | M. | 3 meses | I. b. | Negativo |
| 24 | R. E. — 548 | 28 a. | Br. | 37,8 | 37,0 | R. | 3 meses | D. C. G. | Negativo |
| 25 | L. E. — [illegible]57 | 35 a. | Pd. | 38,3 | 37,0 | R. | 4 meses | D. C. G. | Negativo |
| 26 | D. M. T. — 449 | 26 a. | Br. | 37,7 | 37,1 | R. | 4 meses | D. C. G. | Negativo |
| 27 | A. G. — 508 | 23 a. | Pr. | — | — | B. | 4 meses | F. Ir. | Negativo |
| 28 | A. G. — 477 | 9 a. | Br. | 38,5 | 37,4 | R. | 4 meses | I. b. | Negativo |
| 29 | A. S. — 459 | 11 a. | Br. | 38,5 | 37,5 | R. | 4 meses | I. b. | Negativo |
| 30 | M. T. — 496 | 23 a. | Br. | 37,5 | 35,3 | P. | 4 meses | D. C. G. | Negativo |
| 31 | R. P. — 499 | 24 a. | Pd. | — | 37,4 | R. | 4 meses | D. C. G. | *Strept. hem. vi.* |
| 32 | M. O. — 288 | 36 a. | Am. | 37,5 | 36,6 | B. | 4 meses | I. b. | Negativo |
| 33 | L. A. — 533 | 22 a. | Pr. | 37,9 | 36,9 | R. | 4 meses | D. C. G. | Negativo |
| 34 | A. N. — 562 | 36 a. | Br. | 38,5 | 37,3 | R. | 4 meses | D. C. G. | Negativo |
| 35 | J. E. — 582 | 29 a. | Br. | — | 36,9 | B. | 4 meses | I. b. | Negativo |
| 36 | A. G. — 593 | 27 a. | Br. | — | — | R. | 4 meses | I. b. | Negativo |
| 37 | G. G. A. — 450 | 30 a. | Pr. | 37,9 | 37,0 | R. | 5 meses | F. Ir. | Negativo |
| 38 | M. J. F. — 492 | 43 a. | Br. | — | 37,5 | B. | 5 meses | I. b. | Negativo |
| 39 | E. M. — 426 | 21 a. | Br. | — | — | B. | 5 meses | F. Ir. | Negativo |
| 40 | A. B. — 405 | 11 a. | Pd. | 36,5 | 36,2 | B. | 5 meses | F. Ir. | Negativo |
| 41 | P. R. L. — 473 | 35 a. | Br. | 36,5 | 36,5 | R. | 5 meses | I. b. | Negativo |
| 42 | M. L. — 583 | 33 a. | Br. | — | — | B. | 5 meses | D. R. | Negativo |
| 43 | C. C. — 420 | 10 a. | Pr. | 37,6 | 36,9 | B. | 6 meses | D. C. G. | Negativo |
| 44 | J. T. V. — 436 | 25 a. | Br. | — | 37,5 | B. | 6 meses | I. b. | Negativo |
| 45 | A. R. J. — 509 | 35 a. | Pd. | 37,2 | 36,6 | R. | 6 meses | I. b. | Negativo |
| 46 | R. O. — 511 | 27 a. | Br. | 38,0 | 39,0 | M. | 6 meses | D. C. G. | Negativo |
| 47 | M. C. P. — 542 | 32 a. | Br. | — | 37,1 | R. | 6 meses | D. C. G. | Negativo |
| 48 | V. C. — 549 | 31 a. | Pr. | — | — | R. | 6 meses | I. b. | Negativo |
| 49 | A. A. — [illegible]56 | 70 a. | Br. | 37,0 | 36,5 | P. | 6 meses | I. b. | Negativo |
| 50 | O. C. T. — [illegible]78 | 14 a. | Br. | 37,2 | 37,0 | R. | 6 meses | I. b. | Negativo |
| 51 | C. R. — 389 | 26 a. | Br. | 37,3 | 37,0 | R. | 6 meses | D. C. G. | Negativo |
| 52 | A. A. S. — 588 | 13 a. | Pd. | 87,9 | 37,0 | R. | 6 meses | I. b. | Negativo |
| 53 | A. L. V. — 463 | 27 a. | Br. | — | — | B. | 7 meses | D. R. | *Strept. hem. vi* |
| 54 | J. F. — 448 | 19 a. | Br. | 38,3 | 37,1 | R. | 7 meses | D. C. G. | Negativo |
| 55 | J. F. B. — 339 | 22 a. | Br. | 37,9 | 37,0 | R. | 7 meses | I. b. | Negativo |
| 56 | T. O. — 429 | 35 a. | Pr. | 36,5 | 36,1 | M. | 7 meses | D. C. G. | Negativo |
| 57 | P. M. S. — [illegible]48 | 14 a. | Pr. | 37,2 | 36,8 | B. | 8 meses | I. b. | Negativo |
| 58 | A. S. — 447 | 24 a. | Pd. | 37,4 | 37,1 | M. | 8 meses | D. C. G. | Negativo |
| 59 | A. J. S. — 439 | 18 a. | Pr. | 38,5 | 37,9 | P. | 8 meses | D. C. G. | *Strept. hem. vi.* |
| 60 | M. B. — [illegible]96 | 13 a. | Br. | 37,3 | 38,0 | M. | 8 meses | D. C. G. | *Staph. albus* |
| 61 | P. E. — [illegible]01 | 48 a. | Br. | — | — | B. | 8 meses | F. Ir. | Negativo |
| 62 | D. R. — 503 | 24 a. | Br. | 37,5 | 36,9 | R. | 8 meses | I. b. | Negativo |
| 63 | J. R. — 524 | 23 a. | Br. | — | — | B. | 8 meses | F. Ir. | Negativo |
| 64 | I. J. — 539 | 36 a. | Br. | — | 37,5 | R. | 8 meses | I. b. | Negativo |
| 65 | J. L. S. — 454 | 36 a. | Pr. | 39,0 | 36,8 | B. | 9 meses | D. C. G. | Negativo |
| 66 | M. F. B. — [illegible]28 | 44 a. | Br. | 37,5 | 36,6 | M. | 9 meses | D. C. G. | Negativo |
| 67 | R. S. — 517 | 26 a. | Pd. | 37,0 | 36,0 | R. | 9 meses | I. b. | Negativo |
| 68 | C. C. — [illegible]57 | 26 a. | Br. | 37,2 | 36,6 | M. | 1 ano | D. C. G. | *Strept. hem. vi.* |
| 69 | L. P. — 455 | 26 a. | Br. | 36,5 | 36,5 | R. | 1 aao | D. C. G. | Negativo |
| 70 | C. M. M. — 422 | 22 a. | Pr. | 38,1 | 36,5 | P. | 1 ano | D. C. G. | *Strept. hem. vi* |
| 71 | J. V. S. — 401 | 60 a. | Br. | — | — | B. | 1 ano | D. C. G. | Negativo |
| 72 | R. M. J. — 512 | 13 a. | Br. | 37,2 | 36,8 | R. | 1 ano | D. C. G. | Negativo |
| 73 | E. F. — 430 | 19 a. | Br. | 38,2 | 36,6 | P. | 1 ano | D. C. G. | Negativo |
| 74 | P. S. — 419 | 6 a. | Br. | — | — | B. | 1 ano | F. D. | Negativo |
| 75 | F. S. — 550 | 70 a. | Br. | 36,0 | 35,0 | P. | 1 ano | D. C. G. | Negativo |
| 76 | E. A. S. — [illegible]59 | 10 a. | Br. | 37,1 | 37,0 | R. | 1 ano | F. D. | Negativo |
| 77 | M. R. O. — 557 | 8 a. | Br. | 37,0 | 36,6 | R. | 1 ano | F. D. | Negativo |
| 78 | J. M. — 577 | 19 a. | Br. | — | — | B. | 1 ano | F. Ir. | Negativo |
| 79 | A. M. C. — [illegible]11 | 25 a. | Br. | 38,1 | 37,6 | P. | 14 meses | D. C. G. | Negativo |
| 80 | L. P. — 440 | 38 a. | Br. | 37,9 | 36,6 | M. | 16 meses | D. C. G. | Negativo |
| 81 | M. B. — 432 | 13 a. | Br. | 37,0 | 36,2 | R. | 17 meses | F. D. G. | *Strept. hem. vi.* |
| 82 | S. G. — 479 | 12 a. | Br. | — | — | R. | 17 meses | D. C. G. | Negativo |
| 83 | M. O. S. — 355 | 28 a. | Br. | 40,0 | 39,5 | M. | 18 meses | D. C. G. | Negativo |
| 84 | A. A. M. — 381 | 31 a. | Br. | 38,0 | 37,9 | R. | 18 meses | D. C. G. | Negativo |
| 85 | C. L. — 534 | 18 a. | Br. | 36,4 | 36,4 | R. | 18 meses | D. C. G. | Negativo |
| 86 | L. R. — 231 | 28 a. | Pd. | 38,9 | 36,9 | R. | 20 meses | D. C. G. | Negativo |
| 87 | L. V. B. — 353 | 18 a. | Br. | 37,8 | 36,9 | R. | 20 meses | D. C. G. | Staph. albus |
| 88 | J. W. P. — 277 | 12 a. | Br. | 37,8 | 36,8 | M. | 20 meses | F. D. | *Strept. hem. vi.* |
| 89 | E. M. K. — 381 | 17 a. | Br. | 38,0 | 37,1 | B. | 20 meses | D. C. G. | Negativo |
| 90 | A. M. S. — 443 | 17 a. | Br. | — | — | R. | 2 anos | F. D. | Negativo |
| 91 | J. R. — 36 | 18 a. | Br. | 36,8 | 36,8 | M. | 2 anos | D. C. G. | Negativo |
| 92 | S. S. — 424 | 30 a. | Br. | 37,1 | 36,8 | B. | 2 anos | D. C. G. | Negativo |
| 93 | I. F. — 444 | 11 a. | Br. | 39,5 | 36,5 | M. | 2 anos | F. D. | Negativo |
| 94 | C. F. L. — 293 | 30 a. | Pd. | 38,2 | 36,8 | M. | 2 anos | D. C. G. | *Strept. hem. vi.* |
| 95 | A. F. — 212 | 18 a. | Br. | 38,3 | 37,3 | B. | 2 anos | D. C. G. | Negativo |
| 96 | T. M. — 186 | 18 a. | Am. | 36,5 | 36,0 | M. | 30 meses | D. C. G. | Negativo |
| 97 | J. P. C. — 393 | 50 a. | Br. | 39,1 | 36,8 | B. | 30 meses | D. C. G. | Negativo |
| 98 | E. G. — 291 | 23 a. | Br. | 38,0 | 36,9 | M. | 31 meses | D. C. G. | *Strept. hem.* |
| 99 | J. F. — 465 | 14 a. | Br. | 37,8 | 36,8 | B. | 3 anos | D. C. G. | Negativo |
| 100 | R. R. J. — 242 | 38 a. | Br. | 38,8 | 36,8 | R. | 3 anos | D. C. G. | *Staph. albus* |
| 101 | L. C. B. — 372 | 12 a. | Br. | 37,3 | 37,0 | R. | 3 anos | F. D. | Negativo |
| 102 | N. R. S. — 408 | 25 a. | Pd. | — | — | M. | 3 anos | D. C. G. | Negativo |
| 103 | A. F. — 498 | 20 a. | Br. | 37,0 | 36,8 | B. | 3 anos | D. C. G. | Negativo |
| 104 | A. F. — 229 | 40 a. | Br. | — | 37,2 | M. | 3 anos | D. C. G. | Negativo |
| 105 | N. P. O. — 129 | 17 a. | Br. | 37,6 | 36,6 | B. | 4 anos | F. D. | Negativo |
| 106 | O. J. N. — 67 | 28 a. | Br. | 37,8 | 36,0 | R. | 4 anos | D. C. G. | Negativo |
| 107 | M. A. S. — 85 | 28 a. | Br. | 37,6 | 36,6 | M. | 4 anos | D. C. G. | Negativo |
| 108 | O. L. — 335 | 22 a. | Br. | 40,2 | 39,2 | R. | 4 anos | D. C. G. | *Staph. aureus, vi.* |
| 109 | E. A. — 379 | 16 a. | Br. | — | — | B. | 4 anos | F. Ir. | Negativo |
| 110 | R. E. — 238 | 30 a. | Br. | 37,5 | 36,5 | P. | 4 anos | D. C. G. | *Strept. hem. vi* |
| 111 | O. F. P. — 150 | 18 a. | Pr. | 37,8 | 36,5 | B. | 4 anos | D. C. G. | Negativo |
| 112 | D. Q. — [illegible] | 25 a. | Pr. | 38,5 | 36,8 | M. | 4 a. 1/2 | D. C. G. | *Staph. albus* |
| 113 | B. L. — 12 | 23 a. | Br. | 38,5 | 36,0 | B. | 5 anos | D. C. G. | Negativo |
| 114 | B. T. — 478 | 13 a. | Pd. | 37,6 | 36,6 | R. | 5 anos | D. C. G. | *Strept. hem. vi* |
| 115 | I. D. P. — 495 | 26 a. | Br. | 36,8 | 36,8 | M. | 5 anos | D. C. G. | Negativo |
| 116 | V. C. T. — 9 | 17 a. | Br. | 38,2 | 36,9 | R. | 5 anos | F. D. | *Strept. hem. vi* |
| 117 | E. S. — 160 | 24 a. | Br. | — | — | B. | 5 anos | F. Ir. | Negativo |
| 118 | M. R. — 94 | 12 a. | Br. | 37,8 | 37,0 | R. | 5 anos | F. D. | Negativo |
| 119 | I. D. — [illegible] | 24 a. | Br. | 37,8 | 37,2 | R. | 5 anos | D. C. G. | Negativo |
| 120 | M. A. F. — 451 | 30 a. | Br. | 39,4 | 36,0 | B. | 6 anos | F. Ir. | Negativo |
| 121 | A. P. S. — 71 | 39 a. | Pr. | 37,9 | 36,6 | R. | 6 anos | D. C. G. | Negativo |
| 122 | M. M. — [illegible] | 34 a. | Br. | 38,1 | 36,5 | R. | 6 anos | D. C. G. | Negativo |
| 123 | C. S. — 52 | 43 a. | Br. | 37,0 | 36,8 | B. | 6 anos | D. C. G. | Negativo |
| 124 | G. C. — 30 | 23 a. | Br. | 37,0 | 36,0 | M. | 7 anos | F. D. | Negativo |
| 125 | A. Z. — [illegible] | 15 a. | Br. | 37,9 | 36,2 | R. | 7 anos | D. C. G. | Negativo |
| 126 | A. W. — [illegible]10 | 40 a. | Br. | 36,9 | 35,1 | P. | 7 anos | D. C. G. | *Strept. hem.* |
| 127 | M. Z. — [illegible] | 42 a. | Br. | 37,9 | 36,5 | M. | 7 anos | D. C. G. | Negativo |
| 128 | L. G. — 53 | 18 a. | Br. | 37,6 | 37,1 | R. | 7 anos | F. D. | *Strept. hem. vi* |
| 129 | N. D. — 58 | 14 a. | Br. | 37,4 | 37,2 | M. | 8 anos | F. D. | Negativo |
| 130 | E. F. — 35 | 19 a. | Br. | 36,8 | 36,0 | B. | 8 anos | D. R. | *Strept. hem. a. vi.* |
| 131 | G. S. — 91 | 36 a. | Br. | 37,1 | 36,8 | M. | 8 anos | D. C. G. | Negativo |
| 132 | D. V. — [illegible] | 30 a. | Pr. | 37,4 | 36,8 | R. | 8 anos | D. C. G. | *Strept. hem.* |
| 133 | A. M. — 153 | 17 a. | Br. | 37,6 | 36,8 | R. | 8 anos | F. D. | Negativo |
| 134 | L. L. — [illegible]85 | 30 a. | Br. | 37,2 | 36,5 | B. | 9 anos | D. C. G. | Negativo |
| 135 | A. R. — [illegible]67 | 39 a. | Br. | 38,0 | 36,8 | B. | 9 anos | D. C. G. | Negativo |
| 136 | I. R. — 44 | 37 a. | Br. | — | 37,0 | B. | 9 anos | D. C. G. | Negativo |
| 137 | F. M. — 10 | 35 a. | Br. | 36,2 | 36,0 | B. | 9 anos | D. C. G. | Negativo |
| 138 | A. S. — 217 | 15 a. | Br. | — | 36,8 | B. | 10 anos | F. D. | Negativo |
| 139 | F. F. G. — 206 | 48 a. | Br. | 36,0 | 35,5 | P. | 10 anos | D. C. G. | Negativo |
| 140 | E. V. — 403 | 40 a. | Pd. | — | 35,4 | B. | 10 anos | F. Ir. | *Strept. inerte a. vi.* |
| 141 | A. R. — 25 | 27 a. | Br. | 37,8 | 37,5 | M. | 11 anos | D. C. G. | Negativo |
| 142 | P. S. — 247 | 20 a. | Br. | — | — | B. | 11 anos | D. R. | Negativo |
| 143 | F. L. — 168 | 32 a. | Br. | 37,5 | 36,6 | B. | 11 anos | D. C. G. | Negativo |
| 144 | O. S. — 305 | 29 a. | Br. | 38,0 | 37,1 | R. | 11 anos | D. C. G. | Negativo |
| 145 | G. S. — 245 | 24 a. | Pr. | 37,3 | 36,3 | M. | 11 anos | D. C. G. | Negativo |
| 146 | I. M. — 11 | 44 a. | Pr. | 37,1 | 36,6 | R. | 11 anos | D. C. G. | *Strept. hem. vi* |
| 147 | N. P. O. — [illegible] | 26 a. | Br. | 36,6 | 36,0 | M. | 13 anos | D. C. G. | Negativo |
| 148 | O. S. — 23 | 30 a. | Br. | 36,2 | 35,7 | B. | 17 anos | D. R. | Negativo |
| 149 | S. R. F. — [illegible] | 49 a. | Br. | 37,2 | 36,1 | R. | 22 a. 1/2 | D. C. G. | Negativo |
| 150 | A. P. — 23 | 62 a. | Br. | — | 36,8 | B. | 53 anos | D. R. | Negativo |

| | |
|---|---|
| Fase inicial da invasão bolhosa ........................ | 36 |
| Formas generalizadas crônicas ......................... | 82 |
| Forma distrófica (dermatose generalizada) ............ | 15 |
| Forma frusta (dermatose localizada) .................. | 12 |
| Dermatose em aparente regressão clinica .............. | 5 |

Entre as formas generalizadas crônicas incluimos, como já o fizemos para as epidermoculturas, todos os tipos clínicos crônicos da classificação de Vieira com exceção, aquí, da forma distrófica, que apresenta interesse em ser estudada separadamente.

Devemos prevenir, mais uma vez, que os resultados que iremos expor, prendem-se exclusivamente às hemoculturas de doentes no dia de sua primeira consulta no ambulatório ou na data de seu internamento hospitalar.

## B) COLHEITA DE SANGUE E CONDIÇÕES TÉCNICAS

Dada a intensa proliferação bacteriana existente na epiderme dos individuos atacados de "Fogo Selvagem" nas formas generalizadas crônicas, e constituindo esse grupo de doentes a maioria, a técnica da colheita de sangue é ponto capital para a realização da hemocultura em perfeitas condições.

E' facil avaliar as inúmeras dificuldades que se encontram na colheita do sangue por punção venosa. Mesmo na fase inicial de invasão bolhosa, os impecilhos já se fazem sentir, principalmente quando as bolhas atingem os membros superiores. Com a invasão total do tegumento externo e o estabelecimento do tipo foliaceo generalizado, que é o mais comum dos estádios clinicos crónicos da dermatose, as dificuldades avultam. Do lado cutâneo e articular é licito lembrar as extensas esfoliações lamelares nas quais, por baixo das escamas úmidas, a epiderme se apresenta congesta e muito sensivel, mesmo ao tato; a presença de espessas formações crostosas, intensamente contaminadas, quasi sempre vertendo pús; os amplos deslocamentos epidérmicos, bastante frequentes nas pregas articulares; a flexão forçada do antebraço sobre o braço, posição de defesa contra a dor; a imobilidade no leito, consequência das múltiplas artropatias. Além do mais, os penfigosos apresentam uma sensibilidade exagerada, própria do contínuo sofrimento a que estão submetidos. Tudo isso são obstáculos a serem vencidos na colheita de sangue, pondo à prova a paciencia e a habilidade do técnico.

A desinfecção do braço do doente deve ser feita cuidadosamente. O sangue é sempre colhido em sala fechada com a presença apenas do operador e do auxiliar. Por diversas vezes, entretanto, fomos obrigados a colher material na enfermaria, em doentes cujo estado geral era precário ou naqueles impossibilitados da menor movimentação. Em tais casos, as portas e janelas da enfermaria de-

vem ser fechadas e proibida, enquanto se pratica a colheita, a movimentação de pessoas no recinto.

A introdução da agulha é feita de preferência em zonas de pele sã. Colheita de 20 ou mais cm³ de sangue que é em seguida desfibrinado.

## C) SEMEADURAS

O sangue chegado ao laboratório é imediatamente semeado em caldo-sôro e em caldo-glicosado (distribuidos em balões com 100 a 150 cm³ de meio) e meio Tarozzi (anaeróbio, tubo contendo 5 a 10 cm³ de meio). Incubação em estufa a 37° durante 8 dias no mínimo. Verificações macroscópicas diárias; microscópicas quando necessario; obrigatoriamente essas verificações são feitas ao fim de 48 horas, 4 e 8 dias. Verificada a existência de qualquer crescimento bacteriano, o germe deve ser reisolado nos meios de identificação, de acordo com os seus caracteres primários (morfologia, coloração, crescimento nos meios habituais de laboratório). Sendo isolados estreptococos, já no segundo repique verifica-se a produção de hemólise e sua patogenicidade para animais de laboratório. Todos os germes isolados, mesmo aqueles que se julga inicialmente como de contaminação, são conservados para verificações posteriores e controle do exame bacteriológico.

Os estreptococos do grupo hemolítico mereceram de nossa parte maior atenção, sendo a sua capacidade toxígena e as provas de imunidade estudadas desde o seu isolamento.

Da maioria dos doentes conservamos amostras de soro para estudos de imunologia.

Sempre que houve qualquer dúvida no resultado obtido ou contaminação dos meios de cultura, a hemocultura foi repetida, uma ou mais vezes, para seu perfeito controle.

## D) RESULTADOS

### a) **Hemoculturas de casos do Pênfigo Foliaceo**

1. *Resultados gerais*:

Doentes com hemoculturas positivas para estreptococos: 19 ou 12,6% (Quadro IX);

Doentes com hemoculturas positivas para estafilococos: 5 ou 3,3% (Quadro X);

Doentes com hemoculturas negativas: 126 ou 84%.

QUADRO IX

## HEMOCULTURAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCOS

| N.o do Strept. | Iniciais e N.o observação | Idade | Côr | Tempe-ratura<br>Tarde Véspera<br>Manhã Colheita | Estado geral | Início da molestia | Forma clinica | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 142 | E. P.<br>204 | 22 | Pr. | 39,5<br>39,5 | P. | 3 m. | F. G. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 282 | R. F.<br>499 | 21 | Pd | —<br>37,4 | R. | 4 m. | F. G. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 288 | A.L.V.<br>463 | 27 | Br. | —<br>— | B. | 7 m. | D. R. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 30 | A.J.S.<br>439 | 18 | Pr. | 38,5<br>37,9 | P. | 8. m. | F. G. | *Streptococcus* do grupo indiferente. | ✝ |
| 131 | C. C.<br>857 | 26 | Br. | 37,2<br>36,6 | M. | 1 a. | H. e F. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 71 | C.M.M.<br>422 | 22 | Pr. | 38,1<br>36,8 | P. | 1 a. | H. e F. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 298 | M. B.<br>482 | 13 | Br. | 37,0<br>36,2 | R. | 17 m. | F. D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | S |
| 207 | J.W.P.<br>277 | 12 | Br. | 37,8<br>36,8 | M. | 20 m. | F D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 305 | C.F.L.<br>293 | 30 | Pd. | 38,2<br>36,8 | M. | 2 a. | H. e F. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 162 | E. G.<br>291 | 23 | Br. | 38,0<br>36,9 | M. | 31 m. | F. G. | *Streptococcus* gr. hemolitico. | ✝ |
| 58 | R. E.<br>238 | 30 | Br. | 37,5<br>36,5 | M. | 4 a. | H. e F. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | S |
| 141 | B. T.<br>478 | 13 | Pd. | 37,6<br>36,6 | R. | 5. a. | F.G. e F.D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 297 | V.C.T.<br>9 | 17 | Br. | 38,2<br>36,9 | R. | 5 a. | F.G. e F.D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | S |
| 208 | M. S<br>208 | 42 | Br. | 37,6<br>37,1 | M. | 7 a. | F. D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 14 | N. D.<br>58 | 14 | Br. | 37,4<br>37,2 | M. | 8 a. | F. D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 22 | G. S.<br>301 | 56 | Br. | 37,1<br>36,8 | M. | 8 a. | F. G. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 486 | A. M.<br>153 | 17 | Br. | 37,6<br>36,8 | R. | 8 a. | F. D. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | ✝ |
| 90 | E. V.<br>403 | 40 | Pd. | —<br>36,1 | B. | 10 a. | F. Ir. | *Streptococcus* gr. indiferente, não virulento. | S |
| 205 | J. M.<br>11 | 44 | Pr. | 37,1<br>36,6 | R. | 11 a. | F. G. | *Streptococcus* gr. hemolitico, virulento. | S |

Alguns dos doentes com hemocultura positiva para estreptococos tiveram êsse resultado confirmado em nova hemocultura de controle. Em numerosos doentes, todavia, dada a impossibilidade de realizar segunda sangria ou por terem falecido, não nos foi possivel efetuar dupla verificação.

Quadro X

HEMOCULTURAS POSITIVAS PARA ESTAFILOCOCOS

| No. | Nome e número da observação | Idade | Côr | Temperatura | | Estado geral | Início da molestia | Forma clinica | Resultado |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Tarde (Vespera) | Manhã (Colheita) | | | | |
| 63 | M. B. (396) | 13 anos | Branca | 38,0 | 37,2 | Máu | 5 mêses | Foliacea generalizada | *Staphylococcus*, tipo *albus* |
| 132 | L. V. B. (353) | 18 anos | Branca | 37,8 | 36,9 | Regular | 20 mêses | Foliacea generalizada | *Staphylococcus*, tipo *albus* |
| 42 | R. R. J. (242) | 38 anos | Branca | 36,8 | 36,8 | Regular | 3 anos | Foliacea generalizada | *Staphylococcus*, tipo *albus* |
| 228 | O. L. (335) | 22 anos | Branco | 40,2 | 39,2 | Máu | 4 anos | Foliacea generalizada | *Staphylococcus*, tipo *aureus* |
| 10 | D. Q. (225) | 25 anos | Preto | 38,5 | 36,8 | Precário | 4 an. 1 ? | Foliacea generalizada | *Staphylococcus*, tipo *albus* |

Para estafilococos só consideramos as hemoculturas como positivas depois de confirmadas por novo exame. Nos casos que apresentamos, a pesquisa foi feita no mínimo três vezes, havendo sempre crescimento dos germes em todas as repetições.

2 *Resultados considerando a fase ou forma clinica*:

Os resultados reunidos no Quadro XI correspondem a uma estatística geral da fase ou forma clínica dos doentes de Pênfigo Tropical que foram submetidos à hemocultura.

Durante o periodo de invasão bolhosa, sem comprometimento total do tegumento externo, não tivemos nenhuma hemocultura positiva, apesar do número elevado de doentes observados (36 casos).

Os doentes com a dermatose generalizada constituem a maioria, sendo fornecedores de 12 amostras de estreptococos e de todos os estafilococos isolados por hemoculturas.

A forma distrófica, proporcionalmente, foi a que mais forneceu hemoculturas positivas para estreptococos (5 positivas em 15 doentes). Os casos distróficos exibiam, entretanto, a dermatose generalizada.

Os 12 casos que foram estudados da chamada forma frusta do Pênfigo, apenas em um tivemos resultado positivo para estreptococos do grupo *gama* (inertes)

e destituidos de virulência para animais de laboratório. Sôbre êsse caso faremos logo a seguir alguns comentários (E. V., obs. 403, *Strep.* 90).

Executamos, na dermatose em regressão clínica, hemoculturas em dois casos. Num dêles conseguiu-se isolar estreptococos do grupo hemolitico e avirulentos para animais de laboratório. Sôbre êsse caso, já expusemos a observação clínica resumida no capítulo dedicado as epidermculturas (A. L. V., obs. 463, *Strep.* 288, Figs. 5 e 6).

Não deixa de ser interessante a coincidência de ter-se isolado estreptococos avirulentos somente nos dois casos de dermatose não generalizada.

Quadro XI

RESULTADOS CONSIDERANDO A FASE OU FORMA CLINICA

| Fase ou forma clinica | No. de doentes | Hemoculturas positivas para *Streptococcus* | Hemoculturas positivas para *Staphylococcus* |
|---|---|---|---|
| Invasão bolhosa | 36 | — | — |
| Forma generalizada cronica | 82 | 12 ou 8,00% | 5 ou 3,33% |
| Forma distrófica | 15 | 5 ou 3,33% | — |
| Forma frusta | 12 | 1 ou 0,66% | — |
| Regressão clinica aparente | 5 | 1 ou 0,66% | — |

3) *Resultados considerando o inicio da dermatose:*

Os achados considerados no Quadro XII servem para elucidar o tempo em que o "Fogo Selvagem" havia se instalado nos doentes que forneceram material para êste estudo. E' bastante elucidativo tal quadro, evidenciando que quasi 2/3 do total dos doentes estão registados nos dois primeiros anos de doença. A medida que os anos de doença se vão passando, o número de penfigosos se vai tornando mais raro, provavelmente devido à perda de resistência que o indivíduo apresenta com a evolução da doença. E' notavel a resistência de duas doentes: uma sofrendo da dermatose há 22 anos (S. R. F., obs. 32) e outra há 33 anos (A. F., obs. 23).

Nos seis primeiros meses tivemos duas hemoculturas positivas para estreptococos (E. P., *Strep.* 142 e R. P., obs. 449, *Strep.* 282). Uma hemocultura foi positiva para estreptococos em um doente que se mantinha na fase foliacea generalizada há 11 anos (J. M., obs. 11, *Strep.* 205).

Os estafilicocos fizeram o seu aparecimento depois dos seis meses do inicio do Pênfigo (M. B., obs. 390, *Staph.* 64).

QUADRO XII

RESULTADOS CONSIDERANDO O INÍCIO DA DERMATOSE

| Início da doença | No. de doentes | Hemoculturas positivas *Streptococcus* | Hemoculturas positivas *Staphylococcus* |
|---|---|---|---|
| 1 a 6 mêses | 51 | 2 | — |
| 6 m. a 1 ano | 30 | 4 | 1 |
| 1 a 2 anos | 16 | 4 | 1 |
| 3 anos | 9 | — | 1 |
| 4 anos | 8 | 1 | 2 |
| 5 anos | 5 | 2 | — |
| 6 anos | 4 | — | — |
| 7 anos | 5 | 1 | — |
| 8 anos | 5 | 3 | — |
| 9 anos | 4 | — | — |
| 10 anos | 3 | 1 | — |
| 11 anos | 6 | 1 | — |
| 13 anos | 1 | — | — |
| 17 anos | 1 | — | — |
| 22 anos | 1 | — | — |
| 33 anos | 1 | — | — |

4) *Hemoculturas positivas para estreptococos. Relação entre a gravidade dos casos clínicos e o tipo de hemólise e virulência dos estreptococos isolados*:

Como se depreende dos resultados expostos no Quadro IX a maioria dos doentes com hemocultura positiva para estreptococos apresentava um estado geral sofrível, vindo embora a falecer. A percentagem de letalidade nesses doentes foi de 73,7%, o que demonstra a gravidade do caso clínico, quando se obtem estreptococos em culturas do sangue. Já com os estafilococos a percentagem de letalidade foi bem mais reduzida: 20% (1 caso fatal em 5).

Pareceu-nos interessante pesquisar, desde o início dos nossos trabalhos, a relação dos casos clínicos com o tipo de hemólise e virulência dos estreptococos insulados, procurando relacionar tais achados bacteriológicos com a gravidade da doença na ocasião do exame.

*Estreptococos do grupo gama isolados*: Foram isoladas duas amostras pertencentes ao grupo anhemolitico.

Uma delas (*Strept.* 90), foi isolada de um caso de forma frusta (E. V., obs. 403), já citado, portador da dermatose há 10 anos, sem temperatura sub-febril

vesperal, com bom estado geral, tendo lesões localizadas no rosto em forma de vespertílio e lesões crostosas, numulares e isoladas, no tórax anterior e posterior. Os estreptococos eram destituidos de virulência para coelhos, cobáios, ratos e camondongos.

A outra amostra de estreptococo inerte (*Strept.* 30), provinha de uma doente com a forma foliacea generalizada (A. J. F. S., obs. 439), enferma apenas há 8 meses, em surto febril durante a colheita do sangue e apresentando um estado geral precário (Fig. 19). Faleceu pouco tempo depois. Na necrópsia o

Fig. 19
A. J. F. S., obs. 439 — Dermatose generalizada com estado geral precário.

diagnóstico anatômico principal foi a tuberculose pulmonar. Os hemogramas feitos na mesma ocasião da hemocultura revelaram, além de acentuada anemia hipocrômica, um intenso desvio degenerativo para a esquerda e ausência total dos eosinófilos e monócitos, denotando um gravissimo estado toxi-infeccioso. Não nos foi possivel pesquisar a virulência do germe insulado.

*Estreptococos do grupo beta isolados*: Todas as outras amostras de estreptococos pertenciam ao grupo hemolitico sendo virulentos para animais de laboratório. Somente uma amostra (*Strept.* 288), excepcionalmente, demonstrou ser avirulenta. Esta bactéria foi isolada de um caso (A. L. V., obs. 463), referido e estudado no capitulo das epidermoculturas, em que a dermatose se apresentava

em aparente regressão clínica, após 7 meses de doença (Fig. 5). Quando da alta hospitalar, sendo procedidos os exames necessários, os hemogramas mostraram a existência de quadro de infecção evolutiva. Praticada a hemocultura, houve crescimento, nos vários meios de cultura, de estreptococos hemolíticos. No fim de uma semana a paciente apresentou novo surto bolhoso violento (Fig 6), com agravação do estado geral, tendo dado resultado negativo duas hemoculturas praticadas posteriormente. Convem assinalar o fato de ser êste um dos únicos casos em que foram isolados estreptococos hemolíticos não virulentos para animais de laboratório. Esta doente não consta do Quadro IX, visto a 1.ª hemocultura ser de resultado negativo.

Todos os casos em que foram isolados estreptococos hemolíticos virulentos apresentavam um estado geral via de regra máu (Quadro IX). Os dois doentes com estado geral precário faleceram: E. P. (obs. 204, *Strept.* 142) e C. M. M. (obs. 422 e *Strept.* 71), e estavam em hipertermia elevada quando da colheita do sangue. O caso E. P. é particularmente interessante: tratava-se de um doente em que a dermatose se instalara recentemente, generalizando-se a todo o tegumento externo em menos de 30 dias. Teve duas hemoculturas positivas para estreptococos hemolíticos, no espaço de dois meses. A hipertermia em "steelpchase", própria dos estados septicêmicos, se manteve elevada durante toda a evolução da moléstia, até o desenlace (Gráfico 3). Na necrópsia foram reisolados os mes-

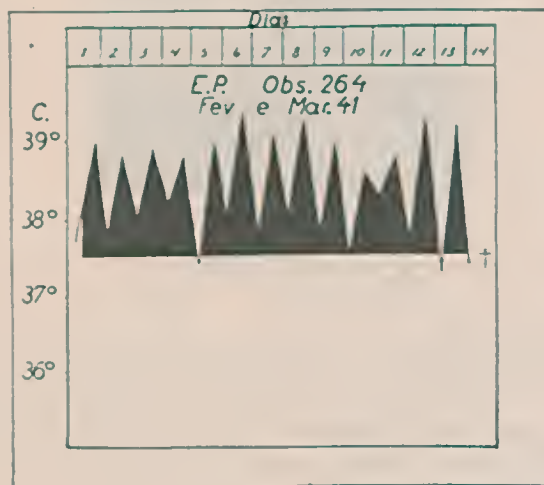



GRÁFICO 3
E. P., obs. 264. Curva térmica pre-agônica em "steeplchase".

mos estreptococos hemolíticos em cultura pura do sangue do coração, baço, fígado e em derrame pericárdico; havia também a concomitância de *tuberculose pulmonar*. A hemocultura de C. M. M. foi positiva 13 dias antes da morte e na necrópsia encontrou-se *tuberculose cascosa em gânglio linfático do hilo pulmonar*.

Excetuando-se a doente R. E. (obs. 238, *Strept.* 58), todos os doentes que apresentavam estado geral catalogado como *mau*, vieram a falecer. Em vários dêles pudemos proceder verificações bacteriológicas na necrópsia ou punção cardíaca logo após o óbito. No próximo capítulo, dedicado às investigações "post mortem", trataremos dêsse aspecto.

5) *Hemoculturas positivas para estafilococos. Relação dos casos clínicos com a capacidade eritrocitolítica e cromogenicidade dos estafilococos isolados*:

Dos estafilococos isolados quatro pertencem à variedade *albus*; dêsses, apenas u'a amostra possuia uma exotoxina eritrocitolítica, obtida do doente D. Q. (obs. 225, *Staph.* 10), cujo estado geral era precário e que faleceu pouco tempo depois da última hemocultura positiva, sendo tambem o único caso fatal dêsse grupo de doentes. Em um caso somente foram isolados estafilococos cromogênicos, da variedade *aureus*, sendo a hemocultura feita em plena exacerbação térmica (O. L., obs. 335, *Staph.* 228). Posteriormente, nesse doente, a hemocultura foi repetida, com resultado negativo.

6) *Hemoculturas positivas e quadro térmico*:

Prendeu nossa atenção o quadro térmico apresentado pelos doentes, o que por si só justificaria plenamente a prática sistemática de hemoculturas. Na maioria dos penfigosos se observa um estado sub-febril vesperal, geralmente não ultrapassando de 38°; em alguns, durante determinados periodos, a temperatura sobe de 38°,5 a 40°,5 às vezes com carater permanente, do tipo septicêmico. Os gráficos que apresentamos são muito demonstrativos. O negrito acentua hipertermias superiores a 37°,5 e as setas indicam o dia em que a hemocultura foi efetuada. Para visualizar a nossa exposição selecionamos os termogramas mais típicos em pequenos grupos de doentes.

*Hemoculturas positivas para estreptococos.* Os doentes aquí referidos foram casos fatais.

Os diagramas do Gráfico 4 tornam patente a possibilidade das hemoculturas para estreptococos durante a febre elevada, que pode atingir até 40°5. O diagrama superior pertence ao doente E. P. (observação 264, *Strept.* 142), sôbre o qual já tecemos considerações e cuja hemocultura foi positiva em pleno surto febril. O diagrama intermediário é da doente A. J. F. S. (obs. 439, *Strept.* 30), já referida por nós, sendo interessante porque a hemocultura foi positiva no início do período ascencional da curva térmica. O diagrama inferior é do doente J. W. P. (obs. 277, *Strept.* 207) e indica a possibilidade de se isolar estreptococos, mesmo no periodo de oscilações descendentes do *fastigium*. Este doente faleceu 5 meses após a hemocultura, em estado de extrema caquexia (Figs. 20 e 21).

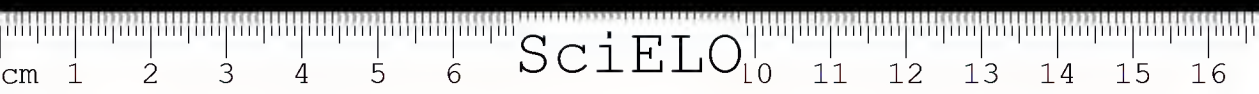
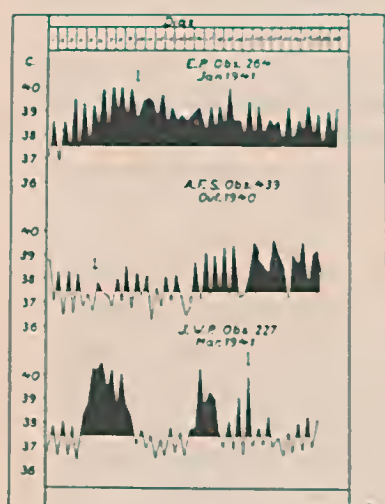



GRÁFICO 4

FIG. 20
J. W. P., obs. 277 — Caquexia terminal.

FIG. 21
O mesmo doente da fotografia anterior visto por cima.

O Gráfico 5 reproduz as variações térmicas da doente E. G. (obs. 291, *Strept.* 162) cuja temperatura nunca ascendeu além de 37°5. Em uma ocasião que mostrava febre pouco elevada (38°0 a 38°2), foram isolados estreptococos hemolíticos do sangue.

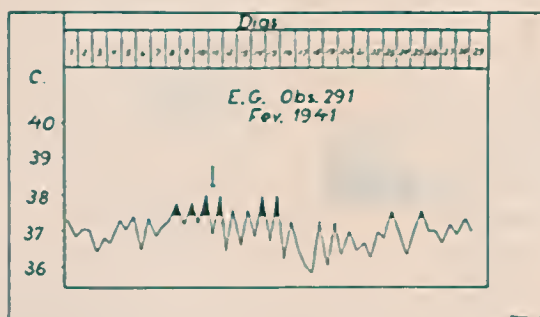



Gráfico 5

Várias hemoculturas foram positivas para estreptococos sem que os doentes estivessem em surto febril intenso. E' o que representa o Gráfico 6 com

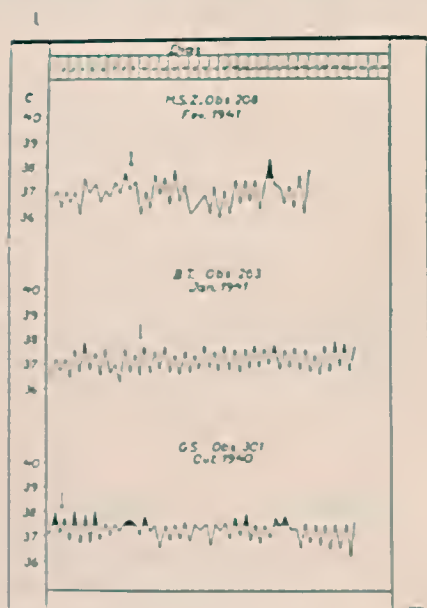



Gráfico 6

os diagramas de três casos fatais, em que a temperatura não passava de 38° na ocasião da colheita de material. De um modo geral, a maioria dos doentes com hemoculturas negativas apresentava quadros térmicos semelhantes.

*Hemoculturas positivas para estafilococos.* No único caso em que foram isolados estafilococos da variedade *aureas* (O. L., obs. 335, *Staph.* 335), o doente apresentava 40° de temperatura no momento da colheita, sendo frequentemente acometido por surtos febris periódicos (Gráfico 7).

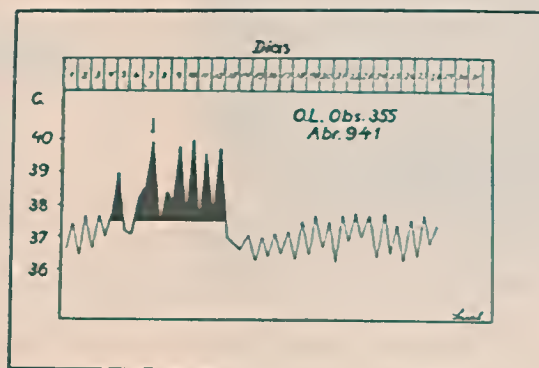



Gráfico 7

Os outros doentes, nas várias ocasiões em que fizemos a hemocultura, não apresentavam temperatura acima de 38°5, como demonstra o Gráfico 8:

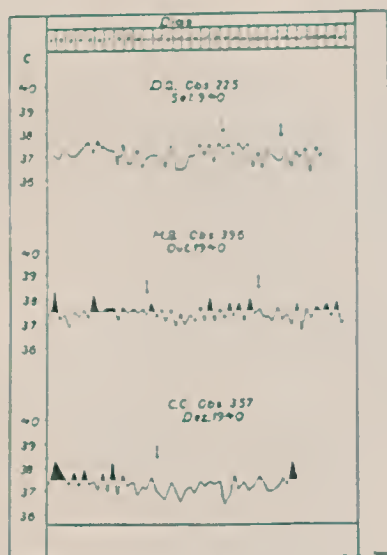



Gráfico 8

b) **Hemoculturas em 4 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring.**

Em três casos de Dermatite de Duhring as hemoculturas foram negativas, tratando-se de casos relativamente benignos, com manutenção do estado geral em bôas condições.

### Quadro XIII

### HEMOCULTURAS EM CASOS DE PÊNFIGO AGUDO FEBRIL, PÊNFIGO VEGETANTE E DERMATITE HERPETIFORME DE DUHRING

| No. | Nome e No. da observ. | Idade | Côr | Temperatura | | Estado geral | Início da moléstia | Forma clínica | Resultado |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Tarde (véspera) | Manhã (colheita) | | | | |
| 154 | W. P. 464 | 16 a. | Br. | — | 40,5 | Prec. | 5 dias | Pênfigo agudo Febril | Negativo |
| 217 | S. M. 490 | 36 a. | Br. | — | 40,2 | Prec. | 1 ano | Pênfigo vegetante | Negativo |
| 475 | S. G. P. — | 53 a. | Br. | — | — | Mau | 1 mês | Dermatite de Duhring | Negativo |
| 27 | J. A. 494 | 45 a. | Br. | 37,2 | 36,9 | Bom | 2 mêses | Dermatite de Duhring | *Streptococcus* gr. *viridans* |
| 270 | P. M. A. 527 | 36 a. | Br. | — | — | Bom | 2 anos | Dermatite de Duhring | Negativo |
| 353 | A. J. 523 | 32 a. | Br. | — | 36,5 | Bom | 2 anos | Dermatite de Duhring | Negativo |

O caso positivo para *Streptococcus* do grupo *alfa* (*viridans*) era recente, com a dermatose generalizada por todo o corpo, respeitando somente os membros inferiores (Figs. 22 e 23). A doença apareceu seguida de cefalagia e febre, variável de 38° a 39°5, durante muitos dias. Tratava-se de um caso grave de moléstia de Duhring, com repercussão para os orgãos internos, principalmente para o lado renal. Depois da medicação sulfanilamídica as hemoculturas deram resultado negativo. Atravessa atualmente uma fase silenciosa da afecção, com desaparecimento total das lesões externas e manutenção de bom estado geral.

A observação clínica dessa doente, na ocasião do exame, registava os seguintes dados:

J. A., 47 anos, branca, brasileira, viuva. Observação feita em 18-10-1940.

*Antecedentes hereditários*: Sem importância.

*Antecedentes familiares*: Teve 7 filhos: 2 faleceram com a idade de 4 anos: um de meningite e outro de dermatose bolhosa generalizada com grandes descolamentos epidérmicos. Entre os vivos, os homens são fortes e as mulheres doentias: a filha mais velha teve mal de Pott há 6 anos; outra, possue uma afecção crônica das unhas e das mãos (eczema, sic); a última, quando pequena, foi muito atacada de ulcerações e, fato interessante, somente no lado esquerdo do rosto e braço esquerdo; o O. E. foi atingido.

*Antecedentes pessoais*: Sarampo, catapora e coqueluche na primeira infância. Gripe pandêmica, em 1918, de forma muito violenta, em plena gestação. No mais, foi sempre forte e de aspecto robusto.

*História da doença atual*: Começou há 3 meses com pequenas manchas numulares, de mais ou menos um centímetro de diâmetro, indolores e não pruriginosas, ao nivel da 7.ª vértebra cervical. Estas manchas se dispuzeram, logo em seguida, em forma de colar ao redor do pescoço. Dias depois, encimando estas lesões, surgiram pequenas vesículas, de líquido citrino e transparente, em forma de "bouquet". As lesões com êste aspecto, rapidamente se alastraram, tendo as manchas tomado mais vulto e encimadas não só por vesiculas, como também, por bolhas de vários tamanhos. As bolhas, do tamanho de uma azeitona, possuiam liquido citrino ou purulento, ou, ainda, de liquido citrino que logo se tornava purulento. Rompidas, em geral espontaneamente, surgiam lesões crostosas e mais tarde cicatrizes hiperpigmentadas e planas. A dermatose se disseminou para as axilas, face anterior e posterior do tórax, abdomen, membros superiores e rosto. O couro cabeludo foi atingido com maior intensidade. Os membros inferiores foram respeitados. A doença apareceu seguida de cefalalgia e febre, durante muitos dias, entre 38° e 39°5. Sentiu grande sensação de ardência ao nivel de todas as lesões, principalmente no rosto. Diz que, com a vinda do catamênio, estas sensações subjetivas melhoraram. Urinava pouco, sendo a urina de coloração muito escura. Teve prisão de ventre acentuada, tendo de recorrer a laxantes. Ficou com a pele muito escura da cintura para cima, a ponto das pessoas de sua intimidade estranharem êste fato.

*Interrogatório sôbre diferentes aparelhos*: Internamente de nada se queixa. Dorme mal. Apetite conservado. A prisão de ventre melhorou muito. Urina normalmente. Menarca aos 12 anos. Casamento aos 19 anos. Não teve abortos. Partos sempre a termo. Os catamênios sempre foram irregulares, quanto ao termo e quantidade; falharam por dois mêses, depois do aparecimento da dermatose. Ha um mês veio profusamente, com coágulos e precedido de corrimento amarelado, abundante e fétido. Depois a dermatose tem melhorado, principalmente no que se refere à sensação de queimadura. Ficou incomodada esta semana, durante 4 dias, normal em quantidade e sem cólicas.

*Inspeção geral*: Apesar da dermatose atingir os membros superiores está possibilitada de efetuar todos os movimentos. Estado de nutrição bom. Temperamento calmo, submisso e cordato. Pouca instrução. Paniculo adiposo muito desenvolvido. Obesidade do tipo hipófiso-genital. Esqueleto de conformação normal. Pele úmida e infiltrada no rosto. Extremidades quentes. Tibialgia intensa e ligeira esternalgia. Dimensões: Peso: 72 K; altura, 1,48 cm; 1/2 envergadura: 76,5 cm; medida pubo-cervical, 77 cm; medida pubo-plantar: 72 cm; perimetro craneano: 56 cm; perimetro torácico: 107 cm; perimetro abdominal: 115 cm; relação punho-pubiana: normal. Temperatura: 36°9, puso, 110; excursões respiratórias: 30.

*Exame dermatológico.*

*Descrição e localização das lesões*: 1) Cabeça: a. Couro cabeludo: pequenas lesões crostosas, punctiformes, raras e esparsas. b. Rosto: Toda a pele está infiltrada e com coloração arroxeada; cicatrizes de vários tamanhos e numerosas sequelas de lesões vesículo-crostosas; à palpação percebem-se vários nódulos consistentes e do tamanho de grãos de chumbo; conjuntivite bilateral, mais acentuada no O. E.: perda de cílios; fotofobia. c. Pescoço: Pele lisa e hipercromia difusa e irregular. 2) Tronco: a. Face anterior do tórax: Ao nivel do ângulo de Louis grande mancha eritematosa, de bordos pigmentados (coloração pardacenta); em todo o tórax, espalhadas e de tamanho e conformação irregulares, manchas hipercrômicas, principalmente nas regiões supra- e infra-escapular e parte superior dos seios; veem-se ainda lesões crostosas, pouco numerosas e esparsas, sequelas de bolhas; nas axilas manchas extensas, com o mesmo aspecto das já descritas; seio esquerdo maior que o direito; mastite cística em ambos; mamilos hiperpigmentados e desenvolvidos; intertrigo na prega dos dois seios. b. Abdomen: Diminutas cicatrizes planas não pigmentadas e pequenas lesões crostosas, *reliquat* de vesículas; pêlos raros no pubis; adiposidade pubiana desenvolvida; adiposidade da parede abdominal muito desenvolvida, formando grande prega e pendular de perfil. c. Face posterior do tórax: manchas muito extensas ou de vários tamanhos e conformação, possuindo caracteres idênticos das do tórax anterior; lesões crostosas com o mesmo aspecto. d. Regiões sacro-iliaca e glútea: Cicatrizes numerosas, numulares e pigmentadas; raras bolhas de liquido purulento; frequentes lesões crostosas. 3) Membros superiores: O braço, antebraço, punho e face dorsal das mãos, apresentam lesões idênticas: cicatrizes planas, circulares, não pigmentadas, numerosas; cicatrizes de conformação e tamanhos diversos, pigmentadas, também numerosas; lesões crostosas, sequelas de bolhas; vesiculas numerosas, sobretudo, na face externa de ambos os braços; raras bolhas com liquido purulento e algumas já rompidas em toda a extensão dos membros. 4) Membros inferiores: Não foram atingidos. Ressaltam a pele que realmente é mais clara que o resto do corpo e a adiposidade das coxas muito desenvolvida. 5) Mucosas: Não atingidas, a não ser a conjuntiva. 6) Gânglios: Sub-occipitais e ínguino-crurais palpáveis, indolores e pouco aumentados. Devido à extensa camada gordurosa não conseguimos palpar outros.

*Provas cutâneas.*

1) Sinal de Nickolsky: Negativo.
2) Sinal de Bettmann: Negativo.

*Exame dos orgãos e aparelhos*: Ao exame clínico nada de importante para merecer registo especial.

*Exames de laboratório.*

1) *Exames de sangue.*

Hemocultura: Positiva para estreptococos do grupo *alfa* (*Strept. viridans*), virulentos para camondongos, por via peritoneal e avirulentos para coelhos, cobáios e ratos.

Fig. 22
J. A., obs. 404 — Caso de Dermatite. Herpetiforme de Duhring.

Fig. 23
O mesmo caso da fotografia anterior. Lesões vesiculosas da face externa do braço direito.

Exame hematológico:

Contagem de leucócitos = 11.200 por mm³.
Contagem de hemátias = 4.200.000 por mm³.
Dosagem de hemoglobina = 87% (100% = 16 g).
Valor globular = 1,0.

Hemograma de Schlling:

| | % | Em No. abs. por mm³ |
|---|---|---|
| Mielócitos neutrófilos | 0 | 0 |
| Neutrófilos com núcleo jovem | 0,5 | 56 |
| " " " bastonado | 16,5 | 1.848 |
| " " " segmentado | 50,0 | 5.600 |
| Eosinófilos | 5,0 | 560 |
| Basófilos | 0,5 | 56 |
| Linfócitos | 23,5 | 2.632 |
| Monócitos | 4,0 | 448 |

Hemograma de Arneth:

| | |
|---|---|
| Neutrófilos não segmentados | 23,6 |
| " com 2 segms. nucleares | 47,9 |
| " " 3 " " | 21,7 |
| " " 4 " " | 5,5 |
| " " 5 " " | 1,3 |

Observações relativas ao exame: Hemátias normocrômicas e normocíticas. Granulações tóxicas nos neutrófilos. Plaquetas em número aparentemente normal.

Quimismo:

Dosagem da glicose = 50 mg por 100 cm³
" " colesterina = 152 mg por 100 cm³
" do cloro plasmático:
Cloro = 385 mg por 100 cm³
Cloretos = 640 mg por 100 cm³.

2) Exame bacteriológico de líquido de bolhas:

Crescimento de *Streptococcus* do grupo *béta* (hemolíticos) e de *Staphylococcus* da variedade *albus*.

3) Exame citológico de líquido de bolhas:

| | |
|---|---|
| Neutrófilos | 93,5% |
| Eosinófilos | 2,0% |
| Basófilos | 0,0% |
| Linfócitos | 3,5% |
| Monócitos | 1,0% |

4) Exame de urina (qualitativo e quantitativo, urina de 24 horas):

| | |
|---|---|
| Volume ...................... | 1.100 $cm^3$ |
| Reação ........................ | ácida |
| Dencidade .................... | 1008 |
| Albumina ..................... | contem (+++) |
| Açucar ....................... | não contem |
| Acetona ...................... | não contem |
| Pigmentso biliares ........... | não contem |
| Ácidos biliares ............... | não contem |
| Dosagem de cloretos .......... | 6,32 g por ‰ |
| " " uréia ........... | 5,11 g por ‰ |
| " " fosfatos ......... | 0,90 g por ‰ |

Exame microscópico do sedimento: Numerosos glóbulos de pús: frequentes cilindros hialinos e granulosos; raras hemátias; abundante descamação de células epiteliais das vias inferiores; filamentos de muco.

### c) Hemocultura em um caso de Pênfigo Vegetante (Quadro XIII)

No caso que tivemos para estudo (S. M., obs. 490), a dermatose se iniciara há um ano por lesões bolhosas da cavidade bucal e faringe. Após 4 meses apareceram lesões por bolhas e crostas no couro cabeludo, com queda total dos cabelos, prurido intenso, ardor e calor; temperatura elevada. Um mês depois da invasão do couro cabeludo. as lesões se generalizaram. Na ocasião em que praticamos a hemocultura, apresentava lesões vegetantes nas axilas, quadrante inferior do abdomen, prega inguinal e face interna das coxas. O estado geral era precário e a temperatura estava a 40º,2. A hemocultura deu resultado negativo, tendo a doente falecido uma semana depois da colheita do sangue. O exame hematológico, efetuado na mesma ocasião, revelou o seguinte: Anemia hipocrómica (3.060.000 hemátias por $mm^3$ e 63% de hemoglobina). Leucopenia (3.500 leucócitos por $mm^3$ ). Neutrocitose tóxica com desvio intenso degenerativo para a esquerda. Ausência total de eosinófilos e basófilos. Linfopenia acentuada. Monocitopenia.

### d) Hemocultura em um caso de Pênfigo Agudo Febril (Quadro XIII)

A hemocultura foi de resultado negativo, tendo sido praticada 3 horas antes da morte. A temperatura axilar no momento do colheita do sangue era de 40º5. As principais informações clínicas sôbre êste caso já foram referidas quando tratamos das epidermoculturas (W. P., obs. 464).

## CAPITULO VII

## VERIFICAÇÕES BACTERIOLÓGICAS "ANTE" E "POST MORTEM"

Enquanto estudávamos a infecção cutânea e praticávamos hemoculturas em doentes de Pênfigo Foliaceo, sem seleção de casos clínicos, acreditávamos ser de imenso interesse, dentro daquele mesmo critério experimental, levar a cabo uma série de verificações bacteriológicas "post mortem". Naquela ocasião já havíamos verificado a frequência dos estreptococos hemolíticos nas eflorescências cutâneas de várias formas clínicas de Pênfigo, e também já havíamos isolado estes germes do sangue, em casos cuja marcha evolutiva tornava patente a existência de uma verdadeira septicemia. Nossa atenção voltou-se ainda para a fenomenologia clinica "ante mortem" dos penfigosos que, além dos fenômenos toxi-infecciosos típicos, apresentavam um quadro térmico muito peculiar, com intensa febre, na maioria dos casos, nos dias que precediam à morte.

Estas circunstâncias fortaleceram o nosso ânimo em prosseguir os estudos da bacteriologia do "Fogo Selvagem" sob êste aspecto e envidamos o máximo de esforços neste sentido.

### A) CASOS ESTUDADOS

Colhemos material de 32 doentes falecidos com dermatose generalizada. Os cadáveres pertenciam a indivíduos adultos do sexo masculino (12 casos) e do sexo feminino (16 casos); de crianças tivemos 4 casos. Em 24 cadáveres o material foi colhido durante a necrópsia e em 12 casos por simples punção cardíaca. Dos casos puncionados, em 4 foi possivel o exame bacteriológico. O fito das punções cardiacas foi afastar as causas de êrro decorrentes da demora das necrópsias. Devido a dificuldades independentes de nossa vontade, foi sempre dificil efetuar a necrópsia no mesmo dia do óbito.

Praticamos hemoculturas de doentes em agonia, a-fim-de verificar se a invasão dos germes se processava "ante mortem". Dos 11 casos em que conseguimos colher sangue, em quatro não foi possivel realizar o exame bacteriológico "post mortem". O número de doentes em que pudemos fazer esta espécie de exame foi relativamente pequeno, o que é absolutamente justificavel, dadas as inúmeras dificuldades em se extrair o sangue nesse período.

O exame necrótico, em sua maioria, foi procedido nas primeiras 24 horas após o desenlace: em um caso fizemô-lo depois de 5 horas; noutro, dentro de 12 horas; em 10, após 24 horas. Entretanto, por motivos alheios à nossa vontade êle foi procedido, algumas vezes, depois de 36 horas (6 casos), de 48 horas (2 casos), de 72 horas (2 casos), de 3 dias (2 casos), de 4 dias (1 caso)

e de 5 dias (1 caso). Os cadáveres, removidos no mesmo dia do óbito para o Departamento de Anatomia Patológica, eram conservados em geladeira.

As punções cardíacas foram feitas nas primeiras horas depois do êxito letal. Foi possivel realizá-las nos primeiros trinta minutos, em 4 cadáveres; até duas horas, em 1 caso; até três horas, em 2 casos; até 4 horas, em 1 caso; até 12 horas, em 3 casos; e até dezesseis horas, em 1 caso.

Com exceção das necrópsias de Nos. 293, 352, 363 e 400, em todos os casos necropsiados, colhemos em vida sangue para hemocultura.

Os casos de contrôle foram escolhidos. Estudamos bacteriologicamente 12 cadáveres, sendo indivíduos adultos do sexo masculino (6 casos), do sexo feminino (4 casos) e prematuros (2 casos). As necrópsias foram efetuadas: após duas horas do óbito (1 caso), 24 horas (5 casos), 48 horas (1 caso), 3 dias (2 casos), 4 dias (1 caso), 5 dias (1 caso) e 7 dias (1 caso). Os corpos, antes da necrópsia, permaneciam guardados em geladeira. O diagnóstico anatômico principal foi: Tuberculose Pulmonar (5 casos), Prematuridade (2 casos), Carcinoma Brônquico (1 caso), Aneurisma da Aorta Abdominal (1 caso), Miocardite Crônica (1 caso), Endocardite Verrucosa da Válvula Mitral (1 caso) e Sarcoma do Braço com Metástases Generalizadas (1 caso).

## B) COLHEITA DE MATERIAL

Dentro das possibilidades oferecidas, procurou-se colher o material necrótico, consoante aos rigorosos preceitos da técnica bacteriológica e sempre em idênticas condições, tanto dos casos de Pênfigo quanto nos de controle.

A colheita de sangue de coração sempre foi efetuada em primeiro lugar. Depois de libertado o plastrão esterno-costal e fendido o pericárdio, para verificação do seu conteúdo, o coração era cuidadosamente exposto e o sangue retirado por punção das aurículas, aspirando-se com seringa esteril. A esterilização local era praticada com espátula metálica aquecida ao rubro, cauterizando-se pelo menos duas vezes uma pequena superfície do órgão por onde se introduzia a agulha. Conseguindo-se quantidades superiores a 5 $cm^3$, o sangue era desfibrinado; quantidades inferiores a êsse volume eram imediatamente semeadas em caldo-glicosado e posteriormente praticadas no laboratório as diversas sementeiras. A mesma orientação técnica foi seguida para a colheita de outros liquidos orgânicos ou de flúidos cavitários anormais.

Para os tecidos consistentes — material sólido — a maneira de proceder foi esta: exposto o órgão, *in loco*, aderia-se durante algum tempo, no mínimo duas vezes consecutivamente, em determinada superfície, uma espátula incandescente; em seguida, com instrumentos cirúrgicos esterilizados, retirava-se um pequeno fragmento do órgão, colocando-o em recipiente esteril e fechado. Êsse frag-

mento era transportado para o laboratório a-fim-de ser submetido às respectivas provas bacteriológicas. Várias vezes, no entanto, a colheita de material foi praticada depois de retirado o órgão da cavidade visceral, sendo a conduta técnica a mesma e trabalhando-se, nessas emergências, o mais rapidamente possivel, sem perda de tempo. Para a colheita de fragmento de cérebro, a dura-mater, após o desprendimento da calota craniana, era conservada, sendo fendida depois de cauterizada. A colheita de tecido dos rins e das suprarrenais foi feita ulteriormente à liberação da cápsula renal.

Como ponto de reparo para as punções cardíacas utilizamos sempre o 4.º espaço intercostal. A desinfecção local era feita rigorosamente com tintura de iodo, retirando-se o excesso com alcool. O sangue era aspirado com seringa de 20 cm³ com trocater.

## C) MATERIAL COLHIDO

Das 24 necrópsias de doentes de Pênfigo, o seguinte material foi extraído:

| | | |
|---|---|---|
| Sangue de coração | 23 | vezes |
| Baço | 24 | " |
| Fígado | 24 | " |
| Cérebro | 14 | " |
| Rim | 11 | " |
| Derrame do pericárdio | 5 | " |
| Medula óssea | 3 | " |
| Derrame peritoneal | 1 | vez |
| Bile vesicular | 1 | " |
| Pulmão | 1 | " |
| Medula espinhal | 1 | " |
| Abcesso pélvico | 1 | " |

Dos 12 casos que fizemos punção cardíaca, em alguns foi possivel a sua colheita mais de uma vez, em diferentes horas; em 4 casos retiramos também derrame do pericárdio.

Dos 12 casos de controle o material necrótico consistiu em:

| | | |
|---|---|---|
| Sangue do coração | 12 | vezes |
| Fígado | 12 | " |
| Baço | 11 | " |
| Rim | 6 | " |
| Cérebro | 6 | " |
| Derrame peritoneal | 1 | vez |
| Suprarrenal | 1 | " |

### D) SEMEADURAS

Os meios de cultura utilizados foram os seguintes: 1) Agar-simples em placa e inclinado; 2) Agar-sangue em placas; 3) Meio Teague em placas; 4) Caldo-glicosado (em tubos com 5 a 10 cm³ de meio ou em balões contendo 100 a 150 cm³ de meio, dependendo do volume do material a ser semeado); meio de Tarozzi (anaeróbio, tubos contendo de 5 a 10 cm³ de meio).

O sangue e o líquido patológicos, diluidos ou não em caldo-glicosado, eram diretamente semeados. O material sólido era reduzido a pequenos fragmentos, triturado asseticamente em gral de porcelana, suspenso em salina fisiológica ou caldo-glicosado e, em seguida, semeado.

As leituras eram feitas 24, 48 e 72 horas, após incubação em estufa a 37°. Logo que se percebia algum crescimento bacteriano, praticava-se o isolamento de todos os germes, a-fim-de proceder à sua identificação. Não havendo germinação bacteriana, esperava-se no mínimo 8 dias para negativar qualquer resultado.

Não foram usados meios eletivos para bactérias ácido-resistentes. Todavia, nos casos de Pênfigo, suspeitos ou com lesões macroscópicas de tuberculose, faziam-se esfregações dos diversos órgãos, para a pesquisa bacterioscópica dos bacilos de Koch.

### E) ANIMAIS INOCULADOS

Órgãos ou líquidos orgânicos de alguns casos de Pênfigo que não demonstraram nenhum crescimento bacteriano, após 48 horas de conservação em baixa temperatura, foram inoculados em coelhos, cobáios, ratos e camondongos, para a pesquisa de virus. De outro grupo de doentes o material patológico — suspensão de órgãos triturados ou flúidos de origem endógena — era filtrado e inoculado no mesmo dia em animais de laboratório.

Na necrópsia 290 (E. F., obs. 480) observou-se um derrame purulento da cavidade peritoneal, que foi diretamente inoculado em ratos e camondongos.

De outra doente (neocrópsia 368, A. Y. F., obs. 477), com pneumonia lobar intercorrente, procurou-se isolar *Diplococcus pneumoniae* inoculando-se suspensão do pulmão em ratos e camondongos.

### F) RESULTADOS

#### 1) Necrópsias de casos de Pênfigo Foliaceo
(Quadro XIV)

1. *Resultados gerais.*

Os resultados obtidos, em relação a todas as necrópsias, globalmente, foram as seguintes:

| 587 | 379 | 469 | 248 |
|---|---|---|---|
| J. B. F. (339) | I. D. P. (495) | C. C. (357) | A. W. (240) |
| Parda | Branca | Branca | Branca |
| 23 anos | 26 anos | 26 anos | 40 anos |
| 3 anos e 5 meses | 6 anos | 7 anos | 7 anos e 5 meses |
| 9-6-42 (9h.10) | 25-11-41 (16h.30) | 18-2-42 (19h.30) | 5-5-41 (22h.30) |
| 10-6-42 (10 h.) | 27-11-41 (10 h.) | 20-2-42 (9 h.) | 7-5-41 (10 h.) |
| Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | Strept. hem. ++<br>*B. sp.* (esp.) +++<br>*Staph. albus* + | *Strept. hem.* +++ |
| *Esch. coli* + | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* ++<br>*B. sp.* (esp.) + | B. subt. ++<br>*Staph. albus* + | *Strept. hem.* + |
| *Esch. coli* + | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* ++<br>*B. sp.* (esp.) ++ | Strept. hem. +<br>*B. sp.* (esp.) +++<br>*Staph. albus* +<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* + |
| — | — | — | — |
| — | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | — | — |
| Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* ++<br>*Strept. hem.* ++<br>*B. sp.* (esp.) ++ | — | — |
| — | — | — | — |
| — | — | — | — |
| — | — | — | — |
| — | — | — | — |
| — | — | — | — |
| — | — | — | — |
| Hemocultura neg. feita ha 1 ano. Fez punções cardiacas 1,30, 3 e 4 horas após a morte. | Hemoculturas (3 negativas. A última foi praticada 4 meses antes. | Hemoculturas (3) positivas para *Strept. hem.* sendo a última feita 6 meses antes. | Hemoculturas (2) negativas sendo a última feita 2 meses antes. |

Quadro XIV

NECRÓPSIAS DE CASOS DE PÊNFIGO FOLIACEO

| No. Necrópsia | 310 | 400 | 550 | 293 | 196 |
|---|---|---|---|---|---|
| Iniciais e No. | J. E. C. (500) | J. P. (541) | A. N. (562) | A. T. P. (504) | E. P. (264) |
| Côr | Preta | Branca | Branca | Branca | Preta |
| Idade | 18 anos | 11 anos | 24 anos | 28 anos | 22 anos |
| Início molést. | 5 meses | 6 meses | 6 meses | 7 meses | 7 meses |
| Dia e Hora — Óbito | 4-7-41 (10 h.) | 19-12-41 (8 h.) | 11-4-42 (8,40) | 1-6-41 (21,30) | 12-3-41 (8,10) |
| Dia e Hora — Necrópsia | 5-7-41 ( 9 h.) | 20-12-41 (9 h.) | 13-4-42 (10h.) | 6-6-41 (9 h.) | 13-3-41 (9 h.) |
| Sangue do coração | *Staph. aureus* +<br>*Staph. albus* ++<br>*Esch. coli* + | Aus. cresc. bact. | *Pr. amer.* +++<br>*B. esp.* ++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* +++ |
| Baço | *Esch. coli* ++<br>*Strept. n. isolado* (hemolitico) ++ | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* ++ | *B. sp.* (esp.) +++<br>B. sp. (esp.) +++ | *Strept. hem.* +++ |
| Fígado | *Esch. coli* ++<br>*Bacillus* sp. (esporulados) ++ | *Staph. albus* + | *Pr. amer.* +++<br>*B. esp.* ++ | *Strept. hem.* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | *Strept. hem.* +++ |
| Derrame pericárdio | *Esch. coli* +++<br>*Ps. aer.* ++<br>*B. sp.* +++<br>*Strept. n. isol.* ++ | — | — | — | *Strept. hem.* +++ |
| Cérebro | *Bacillus* sp. (esporulados) | *Strept. hem.* ++ | — | Aus. cresc. bact. | — |
| Rim | — | *Esch. coli* +++ | — | *Strept. hem.* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — |
| Medula óssea | — | — | *Pr. amer.* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — |
| Derrame peritonial | — | — | — | — | — |
| Bile vesicular | — | — | — | *Strept. hem.* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — |
| Abcesso pélvico | — | — | — | — | — |
| Pulmão | — | — | — | — | — |
| Medula espinhal | — | — | — | — | — |
| Observações | Hem. neg. (2) sendo a última feita 3 dias antes. Pesq. B. K. neg. baço, fígado, cérebro e der. pericárdico. | Não fez hemocultura. | Hem. neg. feita 20 dias antes. Fez punção cardiaca 3 horas após a morte. | Não fez hemocultura. | Hem. (2) posit. para *Strept. hem.* sendo a última feita 2 meses antes. Pesq. B. K. neg. no material trabalhado. |

| No. Necrópsia | 316 | 368 | 291 | 247 | 269 |
|---|---|---|---|---|---|
| Iniciais e No. | M. T. (496) | A. Y. F. (477) | D. M. T. (449) | A. M. (425) | T. O. (429) |
| Côr | Branca | Branca | Branca | Preta | Preta |
| Idade | 27 anos | 9 anos | 26 anos | 25 anos | 55 anos |
| Início molést. | 7 meses | 10 meses | 10 meses | 11 meses | 1 ano |
| Dia e Hora — Óbito | 27-7-41 (17 h.) | 18-10-41 (3 h.) | 23-5-41 (10 h.) | 4-5-41 (22 h.) | 9-5-41 (11 h.) |
| Dia e Hora — Necrópsia | 31-7-41 ( 9 h.) | 20-10-41 (9 h.) | 24-5-41 ( 9 h.) | 5-5-41 (9h.30) | 10-5-41 ( 9 h.) |
| Sangue do coração | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++<br>*Staph. albus* +<br>*Pr. aer.* + | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* +++ |
| Baço | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++<br>*Staph. albus* +<br>B. sp. +<br>*Pr. aer.* ++ | *Strept. ind.* ++<br>B. sp. +<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept hem.* +++ |
| Fígado | *B. sp.* (esp.) +++ | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++<br>*B. subt.* +++ |
| Derrame pericárdio | — | — | — | — | — |
| Cérebro | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +<br>*Staph. albus* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | *Strept. ind.* ++<br>*Staph. albus* ++<br>*Esch. coli* ++ | Aus. cresc. bact. | — | — |
| Rim | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++ | Diplococos ++<br>*Esch. coli* ++ | — | — | — |
| Medula óssea | — | — | — | — | *Strept. hem.* +++ |
| Derrame peritonial | — | — | — | — | — |
| Bile vesicular | — | — | — | — | — |
| Abcesso pélvico | — | — | — | — | — |
| Pulmão | — | *D. pn.* +++<br>*Staph. albus* +<br>*B. sp.* +<br>*Esch. coli* + | — | — | — |
| Medula espinhal | — | — | — | — | — |
| Observações | Hem. neg. sendo a última feita 3 meses antes. | Hemocultura negativa feita 6 meses antes. | Hemocultura negativa feita 4 meses antes. Pesq. de virus em material de cérebro. | Hemocultura negativa feita 5 meses antes. | Hemocultura negativa feita 11 dias antes. |

| No. Necrópsia | 290 | 399 | 292 | 491 | 352 | 363 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Iniciais e No. | E. F. (480) | L. E. (457) | A. M. C. (331 | M. J. F. (492) | R. O. | R. P. (414) |
| Côr | Branca | Branca | Branca | Branca | Branca | Branca |
| Idade | 19 anos | 32 anos | 26 anos | 43 anos | 27 anos | 17 anos |
| Início molést. | 1 a. e 5 meses | 1 a. e 6 meses | 2 anos | 2 anos | 2 anos e 8 meses | 2 anos e 10 meses |
| Dia e Hora — Óbito | 20-5-41 (10h.30) | 18-12-41 (15 h.) | 23-5-41 (1h.30) | 25-2-42 (8h.30) | 8-9-42 (20 h.) | 7-10-41 (16 h.) |
| Dia e Hora — Necrópsia | 22-5-41 (19 h.) | 20-12-41 (10 h.) | 26-5-41 (10 h.) | 26-2-42 (9h.30) | 10-9-41 (10 h.) | 10-10-41 (10 h.) |
| Sangue do coração | *Strept. hem.* + | Strept. n. isol. ++<br>*Pr. vulg.* +++ | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | — | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ |
| Baço | *Strept. hem.* + | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* +<br>*B. esp.* +++<br>*Staph. albus* + | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ |
| Fígado | *Staph. albus* + | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++<br>*Esch. coli* +++ | *Staph. albus* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ |
| Derrame pericárdio | — | — | — | — | — | — |
| Cérebro | — | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++<br>*Staph. albus* ++ | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ |
| Rim | — | Strept. n. isol. +<br>*Pr. vulg.* +++ | — | — | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | *Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ |
| Medula óssea | — | — | — | — | — | — |
| Derrame peritonial | *Strept. hem.* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — | — | — | — |
| Bile vesicular | — | — | — | — | — | — |
| Abcesso pélvico | — | — | — | — | — | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ |
| Pulmão | — | — | — | — | — | — |
| Medula espinhal | — | — | — | — | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — |
| Observações | Hemocultura negativa 1 mês antes. Inoc. do der. perit. em cobaios e ratos. | Hemocultura negativa (2) a última sendo feita 6 meses antes. | Hemocultura (2) negativas sendo a última feita 7 meses antes. Pesq. de virus em mat. de cérebro e fígado. | Fez punção cardiaca 4 horas após a morte. Hemocultura neg. feita 7 meses antes. | Não fez hemocultura. | Não fez hemocultura. Material de medula utilisado para a pesq. de virus. |

| No. Necrópsia | 229 | 203 | 553 | 378 | 587 |
|---|---|---|---|---|---|
| Iniciais e No. | A. F. (229) | N. R. S. (408) | C. A. S. (374) | C. P. L. (293) | J. B. F. ( |
| Côr | Branca | Parda | Preta | Parda | Parda |
| Idade | 41 anos | 25 anos | 9 anos | 30 anos | 23 ano |
| Início molést. | 3 anos | 3 anos | 3 anos | 3 anos e 5 meses | 3 anos e 5 |
| Dia e Hora — Óbito | 7-4-41 (10 h.) | 31-3-41 ( 7 h.) | 18-4-42 ( 8h.50) | 25-11-41 (14 h.) | 9-6-42 (9 |
| Dia e Hora — Necrópsia | 8-4-41 ( 9 h.) | 1-4-41 (11 h.) | 18-4-42 (14h.30) | 27-11-41 ( 9 h.) | 10-6-42 (1 |
| Sangue do coração | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* +++ | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* ++ | Aus. cresc. |
| Baço | *Strept. hem.* + | *Strept. hem.* ++ | Strept. n. isol. +<br>*B. sp.* (esp.) +++<br>*Esch. coli* +++ | *Staph. albus* + | *Esch. coli* |
| Fígado | *Strept. hem.* + | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* |
| Derrame pericárdio | *Strept. hem.* ++<br>*Staph. albus* + | — | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* ++<br>*Strept. hem.* +++ | — |
| Cérebro | — | — | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | — |
| Rim | — | — | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. |
| Medula óssea | — | — | — | Aus. cresc. bact. | — |
| Derrame peritonial | — | — | — | — | — |
| Bile vesicular | — | — | — | — | — |
| Abcesso pélvico | — | — | — | — | — |
| Pulmão | — | — | — | — | — |
| Medula espinhal | — | — | — | — | — |
| Observações | Hemocultura negativa feita 5 meses antes. | Hemoculturas (3) negativas sendo a última feita 20 dias antes. | Fez punção cardiaca 2 horas após a morte. Não fez hemocultura. | Hemoculturas (2) posit. para *Strept. hem.* Sendo a última feita 4 meses antes. | Hemocultura n ta ha 1 ano. F ções cardiacas 3 e 4 horas morte. |

Observação — Forma clínica

Quadro XIV

NECRÓPSIAS DE CASOS DE PÊNFIGO FOLIACEO

| 196 | 316 | 368 | 291 | 247 | 269 | 290 | 399 | 292 | 491 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E. P. (264) | M. T. (496) | A. Y. F. (477) | D. M. T. (449) | A. M. (425) | T. O. (429) | E. F. (480) | L. E. (457) | A. M. C. (331 | M. J. F. (492) |
| Preta | Branca | Branca | Branca | Preta | Preta | Branca | Branca | Branca | Branca |
| 22 anos | 27 anos | 9 anos | 26 anos | 25 anos | 55 anos | 19 anos | 32 anos | 26 anos | 43 anos |
| 7 meses | 7 meses | 10 meses | 10 meses | 11 meses | 1 ano | 1 a. e 5 meses | 1 a. e 6 meses | 2 anos | 2 anos |
| 12-3-41 (8,10) | 27-7-41 (17 h.) | 18-10-41 (3 h.) | 23-5-41 (10 h.) | 4-5-41 (22 h.) | 9-5-41 (11 h.) | 20-5-41 (10h.30) | 18-12-41 (15 h.) | 23-5-41 (1h.30) | 25-2-42 (8h.30) |
| 13-3-41 (9 h.) | 31-7-41 (9 h.) | 20-10-41 (9 h.) | 24-5-41 (9 h.) | 5-5-41 (9h.30) | 10-5-41 (9 h.) | 22-5-41 (19 h.) | 20-12-41 (10 h.) | 26-5-41 (10 h.) | 26-2-42 (9h.30) |
| rept. hem. +++ | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++<br>*Staph. albus* +<br>*Pr. aer.* + | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* + | Strept. n. isol. ++<br>*Pr. vulg.* +++ | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ |
| rept. hem. +++ | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++<br>*Staph. albus* +<br>*B. sp.* +<br>*Pr. aer.* ++ | *Strept. ind.* ++<br>*B. sp.* +<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* + | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* +<br>*B. esp.* +++<br>*Staph. albus* + |
| rept. hem. +++ | *B. sp.* (esp.) +++ | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +++<br>*Esch. coli* +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++<br>*B. subt.* +++ | *Staph. albus* + | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++<br>*Esch. coli* +++ |
| rept. hem. +++ | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +<br>*Staph. albus* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | *Strept. ind.* ++<br>*Staph. albus* ++<br>*Esch. coli* ++ | Aus. cresc. bact. | — | — | — | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++<br>*Staph. albus* ++ |
| — | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* ++ | Diplococos ++<br>*Esch. coli* ++ | — | — | — | — | Strept. n. isol. +<br>*Pr. vulg.* +++ | — | — |
| — | — | — | — | — | *Strept. hem.* +++ | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | *Strept. hem.* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | *D. pn.* +++<br>*Staph. albus* +<br>*B. sp.* +<br>*Esch. coli* + | — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| n. (2) posit. para rept. hem. sendo a ma feita 2 meses es. Pesq. B. K. . no material tra- ado. | Hem. neg. sendo a última feita 3 meses antes. | Hemocultura negativa feita 6 meses antes. | Hemocultura negativa feita 4 meses antes. Pesq. de virus em material de cérebro. | Hemocultura negativa feita 5 meses antes. | Hemocultura negativa feita 11 dias antes. | Hemocultura negativa 1 mês antes. Inoc. do der. perit. em cobaios e ratos. | Hemocultura negativa (2) a última sendo feita 6 meses antes. | Hemocultura (2) negativas sendo a última feita 7 meses antes. Pesq. de virus em mat. de cérebro e fígado. | Fez punção cardíaca 4 horas após a morte. Hemocultura neg. feita 7 meses antes. |

| 352 | 363 | 229 | 203 | 553 | 378 | 587 | 379 | 469 | 248 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| R. O. | R. P. (414) | A. F. (229) | N. R. S. (408) | C. A. S. (374) | C. P. L. (293) | J. B. F. (339) | I. D. P. (495) | C. C. (357) | A. W. (240) |
| Branca | Branca | Branca | Parda | Preta | Parda | Parda | Branca | Branca | Branca |
| 27 anos | 17 anos | 41 anos | 25 anos | 9 anos | 30 anos | 23 anos | 26 anos | 26 anos | 40 anos |
| 2 anos e 8 meses | 2 anos e 10 meses | 3 anos | 3 anos | 3 anos | 3 anos e 5 meses | 3 anos e 5 meses | 6 anos | 7 anos | 7 anos e 5 meses |
| 8-9-42 (20 h.) | 7-10-41 (16 h.) | 7-4-41 (10 h.) | 31-3-41 (7 h.) | 18-4-42 (8h.50) | 25-11-41 (14 h.) | 9-6-42 (9h.10) | 25-11-41 (16h.30) | 18-2-42 (19h.30) | 5-5-41 (22h.30) |
| 10-9-41 (10 h.) | 10-10-41 (10 h.) | 8-4-41 (9 h.) | 1-4-41 (11 h.) | 18-4-42 (14h.30) | 27-11-41 (9 h.) | 10-6-42 (10 h.) | 27-11-41 (10 h.) | 20-2-42 (9 h.) | 7-5-41 (10 h.) |
| — | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | *Strept. hem.* +++ | *Strept. hem.* +++ | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* ++ | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | Strept. hem. ++<br>*B. sp.* (esp.) +++<br>*Staph. albus* + | *Strept. hem.* +++ |
| Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* ++<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | *Strept. hem* + | *Strept. hem.* ++ | Strept. n. isol. +<br>*B. sp.* (esp.) +++<br>*Esch. coli* +++ | *Staph. albus* + | *Esch. coli* + | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* ++<br>*B. sp.* (esp.) + | B. subt. ++<br>*Staph. albus* + | *Strept. hem.* + |
| *Staph. albus* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | *Strept. hem.* + | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* + | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* ++<br>*B. sp.* (esp.) ++ | Strept. hem. +<br>*B. sp.* (esp.) +++<br>*Staph. albus* +<br>*Esch. coli* ++ | *Strept. hem.* + |
| — | — | *Strept. hem.* ++<br>*Staph. albus* + | — | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* ++<br>*Strept. hem.* +++ | — | — | — | — |
| Aus. cresc. bact. | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | — | *Esch. coli* +++<br>*Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | — | — |
| *Strept. hem.* +<br>*B. sp.* (esp.) ++ | *Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | Aus. cresc. bact. | *Esch. coli* ++<br>*Strept. hem.* ++<br>*B. sp.* (esp.) ++ | — | — |
| — | — | — | — | — | Aus. cresc. bact. | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| *Strept. hem.* +<br>*Esch. coli* +++<br>*B. sp.* (esp.) +++ | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Não fez hemocultura. | Não fez hemocultura. Material de medula utilisado para a pesq. de virus. | Hemocultura negativa feita 5 meses antes. | Hemoculturas (3) negativas sendo a última feita 20 dias antes. | Fez punção cardíaca 2 horas após a morte. Não fez hemocultura. | Hemoculturas (2) posit. para *Strept hem.* Sendo a última feita 4 meses antes. | Hemocultura neg. feita ha 1 ano. Fez punções cardíacas 1,30, 3 e 4 horas após a morte. | Hemoculturas (3 negativas. A última foi praticada 4 meses antes. | Hemoculturas (3) positivas para *Stret. hem.* sendo a última feita 6 meses antes. | Hemoculturas (2) negativas sendo a última feita 2 meses antes. |

Observação — Forma clínica dos casos necropsiados: *Dermatose Crônica Generalizada.*

2. Estreptococos associados a outros germes: 29,1% (7 necrópsias).

Presença de estreptococos (total): 54,7%.

*Outros germes* — De 7 necrópsias, numa percentagem de 29,1%, foram isolados os seguintes germes: *Staphycoccus albus, Proteus americanus, Escherichia coli* e *Bacillus* sp. (esporulado).

*Ausência de crescimento bacteriano* — Em 6 necrópsias (25,0%) o resultado das semeaduras foi negativo.

d) *Cérebro* (14 necrópsias):

*Estreptococos*:

1. Estreptococos em cultura pura: 7,1% (1 necrópsia).
2. Estreptococos associados a outros germes: 35,7% (5 necrópsias).

Presença de estreptococos (total): 42,8%.

*Outros germes* — Apenas em uma necrópsia (7,1%) foi possivel isolar outras bactérias não associadas ao estreptococo. Esses germes eram *Bacillus* sp. (esporulados).

*Ausência de crescimento bacteriano* — O cérebro, dentre os órgãos, foi o que sempre mostrou menor crescimento ou mesmo ausência de germes. A percentagem de exames que não demonstraram germinação de bactérias foi de 50,0% (7 necrópsias).

e) *Rim* (12 necrópsias):

*Estreptococos*:

1. Estreptococos em cultura pura: 0%.
2. Estreptococos associados a outros germes: 41,6% (em 5 necrópsias).

*Outros germes* — Bacilos Gram positivos esporulados, *Proteus americanus, Escherichia coli* e diplococos Gram positivos não identificados, foram isolados de 3 necrópsias numa percentagem de 25,0%.

*Ausência de germes* — Em 4 necrópsias, percentagem de 33,3%.

f) *Derrame do pericárdio* (5 necrópsias):

Êste material patológico foi colhido em 5 necrópsias, sendo isolados estreptococos em cultura pura em uma única necrópsia. Em 3 necrópsias os estreptococos estavam associados a outros germes. Não houve desenvolvimento bacteriano em material de uma necrópsia.

g) *Medula óssea* (1 necrópsia):

De um caso colheu-se material, havendo sido possivel o isolamento em cultura pura de estreptococos.

h) *Derrame peritoneal* (1 necrópsia):

Na necrópsia No. 290 observou-se formação purulenta da cavidade peritoneal, sendo isolados estreptococos e bacilos Gram positivos esporulados.

i) *Bile vesicular* (1 necrópsia):

A título de curiosidade colhemos bile por punção da vesicula e houve cres-

cimento de estreptococos e de bacilos Gram positivos esporulados nos meios de cultura.

j) *Abcesso pélvico* (1 necrópsia):

Na necrópsia No. 363 observou-se a presença de um grande abcesso pélvico. As semeaduras de pus colhido por aspiração em seringa esteril revelaram o crescimento de estreptococos, de colibacilo e de bacilos Gram positivos esporulados.

k) *Pulmão* (1 necrópsia):

As semeaduras de fragmento de pulmão da necrópsia No. 368 mostraram a germinação de *Diplococcus pneumoniae, Staph. albus, Bacillus* sp. e *Esch. coli.*

l) *Medula espinhal* (1 necrópsia):

De um único caso (necrópsia 352) foi colhido pequeno fragmento da medula lombar. Houve crescimento, nas diversas semeaduras, de estreptococos, colibacilo e bacilos esporulados.

m) *Suprarrenal* (1 necrópsia):

Ausência de crescimento bacteriano do único caso que tivemos a oportunidade de fazer o exame bacteriológico.

3. *Animais inoculados.*

Do caso 368, em que se observou a intercorrência de uma pneumonia lobar, um pequeno fragmento de pulmão foi triturado em salina fisiológica esteril, na proporção de 1/20 e a suspensão inoculada por via peritoneal, logo depois, em ratos e camondongos. Ao fim de 24 horas os animais morreram, sendo isolados *Diplococcus pneumoniae* em cultura pura do sangue de coração.

Na coleção purulenta da cavidade peritoneal observada na necrópsia 290, conseguimos isolar estreptococos hemolíticos após inoculação, por via peritoneal, em cobáios e ratos.

4. *Dados cuja importância releva assinalar.*

1. Com exceção do estreptococo isolado na necrópsia 368 (A. Y. F., obs. 477), todas as outras amostras pertencem ao grupo *beta*-hemolítico. O estreptococo da necrópsia 368 é indiferente em gelose-sangue (grupo *gama* da classificação de Brown).

2. Em duas necrópsias (A. N., necrópsia 550, obs. 562 e L. E., necrópsia 399, obs. 457), isolamos *Proteus vulgaris* do sangue de coração, fígado e rim, e *Proteus americanus* do sangue de coração, fígado e rim de outra; chamamos atenção para êsses achados, porque o "bacilo de Radaeli", responsabilizado por êste autor (17) e sua escola como agente patogênico do Pênfigo, é uma variedade do *Proteus vulgaris.*

3. O baço foi o órgão que demonstrou mais vezes a presença de estreptococos (75,0%), como também o de maior possibilidade em isolá-los culturalmente puros (37,5%).

4. Somente as semeaduras da necrópsia 587 (J. B. F., obs. 339) não mostraram a presença de estreptococos, havendo escasso crescimento de *Escherichia coli;* a necrópsia foi realizada 24 horas depois do óbito.

5. Em dois casos (O. A. S., necrópsia 553, obs. 374 e A. M., necrópsia 247, obs. 425), foi possivel realizar o exame necrótico 5½ e 12 horas, respectivamente, depois da morte. No primeiro dêsses casos, as semeaduras de sangue de coração, derrame de pericárdio, fígado, rim e cérebro não mostraram crescimento bacteriano; somente no baço verificou-se a presença de estreptococos, que não foram isolados, estando associados ao colibacilo e a bacilos esporulados; êsse caso foi ainda submetido à punção cardíaca duas horas após a morte e as semeaduras permaneceram estéreis. No segundo caso, em que a necrópsia foi procedida 12 horas depois do óbito, foram isolados estreptococos hemolíticos em cultura pura, de sangue do coração, baço e fígado.

6. Na necrópsia 310 (J. E. C., obs. 500), de um indivíduo em que o Pênfigo se manifestara mais recentemente (5 meses antes), não foram isolados estreptococos, estando o material intensamente contaminado por bacilos Gram positivos esporulados, colibacilos e bacilo piociânico; três dias antes do óbito a hemocultura deu resultado negativo. O diagnóstico anatômico principal, neste caso, foi de tuberculose caseosa rapidamente progressiva. A necrópsia foi realizada exatamente 23 horas após a morte.

7. No caso em que a moléstia foi contraída em data mais remota (A. W., necrópsia 248, obs. 240, início 7½ anos antes), foram isolados estreptococos em cultura pura, de sangue do coração, baço e fígado; foram feitas duas hemoculturas em vida com resultados negativos, datando a última de dois meses; a necrópsia feita 36 horas depois do óbito. O diagnóstico anatômico principal foi de bronquite e bronquiolite purulentas com focos de broncopneumonia.

8. Ainda foi possivel o isolamento de estreptococos em estado de pureza do caso 293 (A. P. T., obs. 504), cuja necrópsia foi realizada no 6.º dia depois da morte, conservando-se o cadaver em geladeira. O diagnóstico anatômico desse caso foi de insuficiência do miocárdio.

9. Nunca obtivemos culturas de estafilococos isoladamente do sangue de coração. Em dois casos (J. E. C., necrópsia 310, obs. 500 e M. T., necrópsia 316, obs. 596), os estafilococos estavam associados, respectivamente, a *Escherichia coli* e a estreptococos hemolíticos e bacilo piociânico. As duas amostras de estafilococos pertenciam à variedade *albus*.

10. Os casos — E. P., necrópsia 196, obs. 264; C. F. L., necrópsia 378, obs. 293; e, C. C., necrópsia 469, obs. 357 — tiveram hemoculturas positivas em vida para estreptococos hemolíticos; nas necrópsias êsses germes foram novamente isolados. As hemoculturas tinham sido feitas há mais de 2 meses. Os diagnósticos anatômicos dêsses casos registavam: E. P. — tuberculose pulmo-

nar; C. F. L. — tuberculose do pericárdio; e, C. C. — insuficiência do miocárdio.

11. Acrescente-se ao 3 casos de tuberculose já referidos, o de R. O. (necrópsia 352, obs. 511), com o diagnóstico anatômico de tuberculose caseosa de grandes nódulos em ambos os pulmões. Nos quatro casos, dos 24 aqui estudados, em que se comprovou a existência de tuberculose, os exames bacterioscópicos para bacilos ácido-resistentes foram negativos em esfregaços de cérebro, fígado, baço, rim e derrame do pericárdio.

12. A maioria dos doentes de Pênfigo que necropsiamos (24 casos) faleceram nos dois primeiros anos da doença.

## II) Punções cardíacas "post mortem"
(Quadro XV)

1) — *Resultados gerais.*

*Estreptococos hemolíticos*:

1. Estreptococos hemolíticos isolados em cultura pura: 25,0% (em 3 punções).

2. Estreptococos hemolíticos associados a outros germes: 41,6% (em 5 punções).

Presença de estreptococos hemolíticos (total): 66,6% (em 8 punções).

*Outros germes isolados.*

1. Presença de *Bacillus* sp. (esporulados): 25,0% (em 3 punções).
2. Presença de *Staphylococcus albus*: 16,6% (em 2 punções.
3. Presença de *Streptococcus* do grupo *gama* (inerte): 8,3% (em 1 punção).
4. Presença de *Staphylococcus aureus*: 8,3% (em 1 punção).
5. Presença de *Escherichia coli*: 8,3% (em 1 punção).

2) — *Dados cuja importância releva assinalar.*

1. Os estreptococos hemolíticos foram os germes predominantes.

2. A percentagem global de estreptococos conseguida nas punções cardíacas é menor do que a encontrada nas necrópsias; todavia, em compensação, há maior possibilidade do isolamento de estreptococos em cultura pura.

3. Em uma punção, feita 15 minutos depois do óbito (M. O., punção 619, obs. 288), isolamos estafilococos em cultura pura.

4. No caso J. B. (P. 588, obs. 339), fizemos 3 punções de resultados negativos: a primeira, 30 minutos depois da morte; a segunda, 3 horas e a terceira ao fim de 4 horas. O cadaver foi submetido à necrópsia, 25 horas depois do óbito (necrópsia 587), tendo havido escasso crescimento de *Esch. coli*, com ausência de estreptococos.

(Quadro XV)

| N.o | Iniciais e N.o observação | Idade | Côr | Início da moléstia | Dia e hora do óbito | Punções | | | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | No. | Dia e Hora | Resultado | |
| 566 | G.S. 301 | 58 | Br. | Dez. 1932 | 13,10 25-5-42 | 1a. | 13 20 25-5-42 | Ausência crescimento bacteriano | Hemocultura negativa 48 horas antes. Tem hemocultura positiva estreptococos datando de um ano. |
| | | | | | | 2a. | 11,00 26-5-42 | *Bacillus* sp., *Staph. aureus* e *Strept. hem.* | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 619 | M. O. 288 | 42 | Am. | Jul. 1940 | 16,30 8-7-942 | 1a. | 16,45 8-7-942 | *Staph. albus* | Hemocultura positiva, feita 11 meses antes, para estreptococos hemolíticos. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 653 | P.R.L. 473 | 36 | Br. | Out. 1940 | 17,50 1-9-942 | 1a. | 18,10 1-9-942 | *Strept. hem.* | Hemocultura negativa 24 horas antes. |
| | | | | | | 2a. | 19,30 1-9-942 | *Strept. hem.* | |
| | | | | | | 3.a | — | — | |
| 588 | J. B.F. 339 | 23 | Pd. | Fev. 1939 | 9,10 9-6-42 | 1a. | 10,40 9-6-42 | Ausência crescimento bacteriano | Fez necrópsia 24 horas depois do óbito. |
| | | | | | | 2a. | 12,10 9-6-42 | Ausência crescimento bacteriano | |
| | | | | | | 3a. | 13-10 9-6-42 | Ausência crescimento bacteriano | |
| 628 | A.M.S. 584 | 61 | Pd. | Fev. 1942 | 8,00 14-7-42 | 1a. | 10-30 14-7-42 | *Strept. hem.* | Hemocultura negativa 24 horas antes. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 551 | O.A.S. 374 | 9 | Pr. | Mar. 1940 | 8,50 18-4-42 | 1a. | 11,10 18-4-42 | Ausência crescimento bacteriano | Fez necrópsia 5 horas e 40 minutos depois do óbito. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 549 | A. N. 562 | 24 | Br. | Out. 1941 | 8,10 11-4-42 | 1a. | 11,20 11-4-42 | *Strept. hem.* *Strept. ind.* | Fez necrópsia 24 horas depois do óbito. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 490 | M. J.F. 492 | 43 | Br. | Nov. 1940 | 8,30 25-2-42 | 1a. | 11,30 25-2-42 | *Strept. hem.* *Bacillus* sp. (esporulados) | Fez necrópsia 25 horas depois do óbito. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3.a | — | — | |
| 613 | N. D. 58 | 19 | Br. | 1933 | 2,00 3-7-42 | 1a. | 10,00 3-7-942 | Ausência crescimento crescimento | Tem hemocultura positiva para estreptococos hemolíticos 1 ½ ano antes. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 557 | R. B. 551 | 58 | Br. | Fev. 1942 | 0,30 10-5-42 | 1a. | 10,00 10-5-42 | *Esch. coli*, *Staph. albus* e *Strept. hem.* | Hemocultura negativa feita um ano antes. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 563 | I. F. 444 | 12 | Br. | Fev. 1938 | 20,30 7-3-42 | 1a. | 8,30 8-3-942 | *Strept. hem.* | Hemocultura negativa feita 3 meses antes. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |
| 497 | A. A. 556 | 70 | Br. | Out. 1941 | 18,00 7-3-42 | 1a. | 10,00 8-3-942 | *Strept. hem.* *Bacillus* sp. (esporulados) | Hemocultura negativa 12 dias antes. |
| | | | | | | 2a. | — | — | |
| | | | | | | 3a. | — | — | |

Observação: Forma clínica dos casos necropsiados. Dermatose crônica generalizada.

5. Do caso O. A. S. (punção 551, obs. 374), cujo resultado da punção foi negativo, realizamos a necrópsia 5½ horas depois (Necrópsia 553). As semeaduras, de sangue de coração, de derrame do pericárdio, tecido hepático, renal e cérebro, não mostraram crescimento bacteriano; somente no baço verificou-se a presença de estreptococos, que não foram isolados.

6. A. N. (punção 549, obs. 562) teve hemocultura negativa 19 dias antes do óbito. A punção cardíaca feita 2,40 horas depois da morte, mostrou crescimento de estreptococos do grupo *beta* e do grupo *gama*. A necrópsia (n.º 550), feita no dia seguinte, não mostrou a prkesença de estreptococos no sangue de coração, havendo crescimento nas semeaduras de *Proteus americanus* e bacilos esporulados: os estreptococos hemoliticos foram isolados em cultura pura do baço.

7. M. J. F. (punção 490, obs. 492) foi outro caso em que foi possivel efetuar a necrópsia no dia seguinte ao óbito. A punção cardíaca feita 3 horas depois da morte teve como resultado o crescimento de estreptococos hemolíticos e de bacilos esporulados; na necrópsia (n.º 491), as semeaduras do sangue de coração praticadas 22 horas depois da punção cardiaca, deram igual resultado.

8. N. D. (punção 613, obs. 58), foi um doente de forma distrófica, com hemocultura positiva para estreptococos hemolíticos, 1 ano antes da morte. A punção cardiaca procedida 8 horas depois do óbito, foi negativa.

## III) Hemoculturas "ante mortem"
(Quadro XVI)

O fito destas pesquisas foi verificar se havia invasão de germes da corrente sanguínea nos dias que precedem à morte ou durante a agonia. De uma doente (M. C. R., hemocultura 407, obs. 536), foi possivel colher sangue 3 horas antes do falecimento; nos casos restantes, que reunimos no Quadro XVI, a hemocultura foi precedida em tempos variáveis e consideramos como periodo "ante mortem" até o máximo de 17 dias, quando o prognóstico *quoad vitam* era mau, com o estado geral precário, estando os doentes em franca fase pré-agônica.

Como se verifica no Quadro XVI, nas 11 hemoculturas praticadas, somente em dois casos isolamos estreptococos do grupo hemolitico. A média de positividade, portanto, se aproxima numericamente das hemoculturas positivas para estreptococos em todas as fases clinicas da moléstia, isto é, dando uma percentagem de 18,1%.

Os achados mais importantes, relativos aos casos nos quais conseguimos proceder a cultura do sangue no período pré-mortal, e que merecem ser levados em consideração, são os seguintes:

1. A. D. (ex. 720, obs. 508) foi um caso muito bem estudado no capítulo das epidermoculturas (Quadro II, pág. 36) e por nós acompanhado durante toda

a evolução da doença, do qual se isolou estreptococos hemolíticos 5 dias antes do falecimento. Adiante, na discussão final do trabalho, teceremos novas considerações a seu respeito.

2. C. M. M. (ex. 71 obs. 422) teve hemocultura positiva 13 dias antes do óbito, estando em plena fase pré-agônica. Sôbre esta doente prestamos alguns esclarecimentos no capítulo referente às hemoculturas (Quadros VIII e IX, pags. 183, 187).

3. No caso P. R. L. (ex. 650, obs. 473), com hemocultura negativa 30 horas antes do óbito, fez-se duas punções cardíacas, ambas com resultado positivo para estreptococos hemolíticos, sendo a 1.ª vinte minutos depois da morte (ex. 653, Quadro XV).

QUADRO XVI

HEMOCULTURAS "ANTE-MORTEM"

| No. | Iniciais e no. oberv. | Idade | Côr | Início da moléstia | Temperatura | | Dia e Hora | | Resultado | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Tarde (véspera) | Manhã (colheita) | Hemocultura | Óbito | | |
| 467 | M.C.R. 536 | 29 | Br. | Out. 41 | 36,9 | 35,2 | 9,30 18-2-42 | 12,20 18-2-42 | Negativo | Hemocultura negativa feita 12 dias antes. |
| 650 | P.R.L. 473 | 36 | Br. | Out. 40 | 36,8 | 36,0 | 10,00 31-8-42 | 17,30 1-9-942 | Negativo | Hemoculturas negativas feitas um ano ante. |
| 470 | F. S. 550 | 70 | Br. | Desconhe- | 36,0 | 35,0 | 10,00 20-2-42 | 5,40 22-2-42 | Negativo | — |
| 564 | G. S. 801 | 58 | Br. | Dez. 32 | 37,4 | 37,7 | 11,00 23-5-42 | 13,10 25-5-42 | Negativo | Hemocultura positiva *Streptococcus* feita um ano antes. |
| 625 | A.M.S. 584 | 61 | Pd. | Fev. 42 | 38,0 | 37,1 | 9,00 11-7-42 | 10,30 14-7-42 | Negativo | Hemocultura negativa feita um ano antes. |
| 303 | J.E.C. 500 | 18 | Pr. | Fev. 41 | 37,5 | 36,6 | 10,00 1-7-41 | 10,30 4-7-941 | Negativo | Hemocultura negativa feita 2 meses antes. |
| 726 | A. D. 508 | 24 | Pr. | Mar. 41 | 37,2 | 37,0 | 17,00 6-3-43 | 10,25 11-3-43 | *Strept. hemol.* | — |
| 457 | A. A. 556 | 70 | Pr. | Out. 41 | 37,2 | 36,6 | 10,30 25-2-42 | 18,00 7-3-942 | Negativo | Hemocultura positiva feita um ano antes. |
| 245 | T. O. 429 | 55 | Pr. | Out. 40 | 36,1 | 36,5 | 9,00 28-4-41 | 11,00 9-5-941 | Negativo | Fez necrópsia (No. 269) 24 horas depois da morte. |
| 71 | C.M.M. 422 | 24 | Pr. | Set. 39 | 38,1 | 36,8 | 9,00 8-10-41 | 9,00 21-10-41 | *Strept. hemol.* | — |
| 143 | M.L.A. 462 | 19 | Br. | Nov. 40 | 37,8 | 37,2 | 10,00 11-1-41 | 17,50 28-1-41 | Negativo | — |

Forma clinica dos casos: *Dermatose crônica generalizada.*

4. G. S. (ex. 564, obs. 301, Quadro XV), teve hemocultura positiva para estreptococos hemolíticos, 1 ano antes. A hemocultura praticada 48 horas antes do falecimento foi negativa. A 1.ª punção, feita 10 minutos após a morte, não mostrou crescimento bacteriano. No dia seguinte puncionamos o coração, tendo sido isolados estreptococos hemolíticos, estafilococos dourados e bacilos esporulados.

5. A. M. S. (ex. 625, obs. 584, Quadro XV), foi um caso grave e de desenlace rápido. Teve duas hemoculturas negativas: a 1.ª um mês antes da morte e a 2.ª em plena fase agônica. A punção cardíaca, realizada 2½ horas depois do óbito, foi positiva para estreptococos hemolíticos.

6. A. A. (ex. 487, obs. 556, Quadro XV), foi um caso mau com bolhas sanguinolentas e lesões atingindo a cavidade bucal; lesões das mucosas no Pênfigo Tropical são raras e sempre indicam extrema gravidade. A hemocultura foi negativa 10 dias antes da morte. Na punção cardíaca, isolou-se estreptococos hemolíticos e bacilos esporulados.

7. Os outros casos aqui mencionados não merecem um registo especial, alguns, entretanto, já foram estudados nos capítulos anteriores.

## IV) Casos de controle

(Quadro XVII)

Neste estudo comparativo tivemos em mira exclusivamente o controle das necrópsias do Pênfigo Foliaceo; para tanto, efetuamos pesquisas necróticas em idênticas condições técnicas, em cadáveres cujo óbito foi motivado por outras doenças.

Os resultados obtidos podem ser resumidos da seguinte maneira:

1) *Germes isolados*:

| | | |
|---|---|---|
| *Bacillus* sp. (esporulados) .................. | 50,0% | (em 6 necrópsias) |
| *Escherichia coli* ............................ | 50,0% | " 6 " ) |
| *Streptococcus beta* (*hemolyticus*) ........... | 16,6% | " 2 " ) |
| *Staphylococos albus* .......................... | 16,6% | " 2 " ) |
| *Proteus vulgaris* ............................ | 8,3% | (em 1 necrópsia) |
| *Proteus americanus* .......................... | 8,3% | " 1 " ) |
| *Salmonella schottmülleri* ..................... | 8,3% | " 1 " ) |

2) *Ausência de crescimento bacteriano*:

De 2 necrópsias, numa percentagem de 16,0%, não se obteve crescimento bacteriano nos meios semeados. Um dos casos — Y. G., No. 357, diz respeito a uma necrópsia feita 2 horas depois do óbito; outro caso — M. R., No. 383 a verificação cadavérica foi procedida 9 horas após a morte. Esses dois casos mostram que a técnica por nós utilizada foi razoavel.

3) *Casos em que foram isolados estreptococos hemolíticos*:

i. S. L., preto, 44 anos, casado, brasileiro, necrópsia No. 404, realizada 28,10 horas após o óbito.

*Diagnóstico clínico*: Sarcoma do braço com metástases ganglionares e esplênica.

*Observações clínicas principais*: Há 4 anos tumor no braço direito. Há 3 meses o tumor começou a crescer muito e notou também aumento do abdomen, principalmente do hipocôndrio esquerdo. Emagreceu muito. Ao exame físico, além do tumor no braço direito, havia um pequeno tumor na região mamária esquerda e o baço muito aumentado. Anemia hipocrômica, com 2.900.000 de hemátias por mm³ e 75% de Hb.. O doente entrou em colapso, ficando sem pulso e sem pressão arterial, vindo assim a falecer.

*Diagnóstico anatômico*: Sarcoma infiltrativo da parte mole do braço direito principalmente da região do biceps, com infiltração difusa do músculo. Flebectasias de todas as veias do braço direito e do ombro D. Infiltração tumoral do plexo branquial D. Metástases tumorais do externo. Grandes metástases tumorais do fígado. Metástases nos gânglios linfáticos profundos do pescoço e do hilo dos pulmões. Pequenas metástases pleurais. Peritonite sarcomatosa difusa com aderências. Metástases múltiplas no diafragma. Infiltração tumoral difusa de todo o baço, com grandes infartos anêmicos. Metástases nos gânglios linfáticos axilares. Atrofia fosca do coração. Atrofia gelatinosa do tecido gorduroso epicardico. Ligeira esclerose e ateromatose da aorta descendente. Forte hiperemia e edema de ambos os pulmões com focos de *broncopneumonia* confluentes nos lobos inferiores. Inchação turva do fígado. Amplas aderências pleurais. *Pleurite* fibrinosa. Papiloma mixomatoso da corda vocal D. Estruma coloide difuso. Exostoses múltiplas da vértebra. Anemia geral.

*Exame microscópico*: Tumor altamente diferenciado que apresenta acentuado polimorfismo celular: céludas pequenas e grandes, redondas e polimorfas, em parte fusiformes com atipia nuclear de mais alto grau e número grande de mitoses.

*Diagnóstico*: Sarcoma polimorfo-celular.

ii J. F. L., branco, brasileiro, solteiro, necrópsia No. 357, realizada 7 dias depois do óbito.

*Diagnóstico anatômico*: Tísica pulmonar bilateral: broncopneumonia caseosa rapidamente progressiva com grandes cavernas nos lobos superiores de ambos os pulmões. Obliteração de ambas as cavidades pleurais. Tuberculose ulcerosa intestinal, principalmente da região ileocecal. Pequenas úlceras tuberculosas no laringe. Fígado tuberculoso gorduroso. Dilatação de todo o coração. Hiperplasia cinzenta do baço. Anemia e emagrecimento geral.

---

Todas as necrópsias foram executadas no Departamento de Anatomia-Patológica da Escola Paulista de Medicina. Aproveitamos o ensejo para apresentar os nossos agradecimentos ao Prof. Walter Büngeler que facilitou a nossa tarefa, colocando à nossa disposição o material de que necessitamos. As necrópsias dos casos de Pênfigo Foliáceo foram praticadas em sua maioria pelo Dr. Fernando Lecheren Alayon e algumas pelo Dr. Paulo Rath de Souza, ambos competentes anátomo-patologistas do Instituto de Leprologia "Conde de Lara" e que demonstraram o maior interesse pelo presente trabalho. Os casos de controle foram necropsiados pelo digno colega, Dr. Decio Fleury da Silveira. Somos muitissimo gratos a todos êsses distintos amigos pelo auxílio eficiente que nos prestaram.

Quadro XVII

NECRÓPSIA DOS CASOS DE CONTROLE

| N.º | Nome | Procedencia | Cor | Idade | Diagnóstico clínico principal | Diagnóstico anatômico principal | DIA E HORA | | Sangue de coração | Baço | Fígado | Rim | Cérebro | Suprarenal | Derrame peritoneal |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | Óbito | Necrópsia | | | | | | | |
| 315 | A.M.A | H. S. P. | B. | 2 m. | Toxicóse por dispepsia de origem alimentar. | Prematura pneumonia hemorrágica. | 21/7/41 22 h. | 24/7/41 11 h. | Ausência de crescimento bacteriano. | *Esch. coli* ++ | Ausência de crescimento bacteriano. | — | — | — | — |
| 317 | J.F.L. | V. M. | B. | 27. a. | Tbc. pulmonar. Caquexia. | Tisica pulmonar bi-lateral. | 24/7/41 17 h. | 31/7/41 9 h. | *Strep. hemolyticus* ++ *Bacillus* (esporulados ++ | *Proteus vulgaris* ++ | Ausência de crescimento bacteriano. | *Esch. coli* +++ | Ausência de crescimento bacteriano. | — | *Strept. hemol.* ++ *Bacillus* sp. ++ |
| 322 | J. C | V. M. | B. | 78 a. | Tbc. pulmonar. | Tisica cavernosa. | 11/8/41 17 h. | 13/8/41 9 h. | *Bacillus* sp. + | *Staph. albus* ++ | Ausência de crescimento bacteriano. | *Esch. coli* ++ *Bacillus* sp. (esporulados) + | *Proteus vulgaris* ++ *Bacillus* sp. ++ | — | — |
| 341 | J. B. | V. M. | B. | 33 a. | Tbc. pulmonar. | Carcinoma bronquico. | 17/8/41 | 18/8/41 10 h. | *Bacillus* sp. (esporulados) + | *Bacillus* sp. ++ *Esch. coli* ++ | *Staph. albus* ++ | — | *Bacillus* sp. (esporulados) + | — | — |
| 342 | M. A. | H. S. P. | B. | 20 d. | Distrofia. Prematuridade. Lues congênita. | Prematuridade. | 20/8/41 12.30 h. | 25/8/41 9 h. | *Bacillus* sp. (esporulados) + | *Bacillus* sp. (esporulados) + *Esch. coli* ++ | Ausência de crescimento bacteriano. | — | — | — | — |
| 346 | J. B. | H. S. P. | Pd. | 36 a. | Aneurisma da aorta abdominal. | Grande aneurisma da aorta abdominal. | 28/8/41 6.30 h. | 29/8/41 10 h. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | *Esch. coli* ++ | — | *Esch. coli* + | — |
| 357 | Y.G. | H. S. P. | B. | 41 a. | Hernia estrangulada. Miocardite crônica. | Hipertrofia de todo o coração. Miocardite crôn. Órgãos de estase. | 17/9/41 8 h. | 17/9 41 10 h. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | — | Ausência de crescimento bacteriano. | — | — |
| 360 | A.J.O | V. M. | Pr. | 21 a. | Tbc. pulmonar. | Tisica pulmonar bi-lateral. | 4 10/41 2 h. | 7/10/41 10 h. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | *Esch. coli* ++ *Salm. schotmulleri* ++ | *Esch. coli* ++ | — | — | — |
| 369 | D.G.S. | V. M. | B. | 61 a. | Insuficiência cardiaca. | Endocardite verrucosa da valvula mitral. | 16/10/41 88 h. | 20/10/41 10 h. | *Proteus americanus* +++ | *Proteus americanus* ++ *Staph. albus* + *Bacillus* sp. ++ | Ausência de crescimento bacteriano. | — | — | — | — |
| 376 | B. S. | V. M. | B. | 18 a. | Tbc. pulmonar. | Tisica galopante. | 18/11/41 4 h. | 20/11/41 10 h. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | *Esch. coli* ++ | Ausência de crescimento bacteriano. | — | — |
| 383 | M. R. | H. S. P. | Pr. | 62 a. | Tumor maligno do estomago e met. perit. e intestinais. | Tuberculose pulmonar bilateral. | 5/12/41 1 h. | 6/12/41 10 h. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | Ausência de crescimento bacteriano. | — | Ausência de crescimento bacteriano. | — | — |
| 404 | S. L. | H. S. P. | Pr. | 44 a. | Sarcoma do braço com met. gang. e esplênicos. | Sarcoma do braço com metastases generalizadas. | 23/12/41 5.50 h. | 24/12/41 10 h. | Estrept. hemolitico e *Bacillus* sp. (esporulado). | — | Estrept. hemolitico. | Estrept. hemolitico e *Bacillus* sp. (esporulado) | Estrept. hemolitico. | — | — |

## CAPÍTULO VIII

## IDENTIFICAÇÃO DOS ESTREPTOCOCOS

### A) AMOSTRAS ESTUDADAS

Procedemos um estudo minucioso de 54 amostras de estreptococos. Dessas, 50 foram isoladas por nós, sendo que 42 eram provenientes de casos de Fogo Selvagem.

A procedência dos estreptococos é a seguinte:

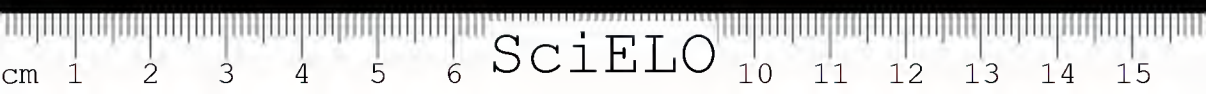
1. *42 amostras isoladas de Pênfigo Foliaceo*:
   a) De hemoculturas: 16 hemolíticas e 1 inerte;
   b) De erostas: 7 hemolíticas e 1 inerte;
   c) De líquido de bolhas: 6 hemolíticas;
   d) De necrópsias: 10 hemolíticas e 1 inerte.

2. *3 amostras isoladas de Dermatite Herpetiforme de Duhring*:
   a) De hemocultura: 1 viridescente;
   b) De líquido de bolhas: 2 hemolíticas.

3. *2 amostras hemolíticas isoladas dos controles das verificações bacteriológicas "post mortem"*:
   a) 1 isolada de caso de tuberculose pulmonar;
   b) 1 conseguida em caso de sarcoma do braço com metástases generalizadas.

4. *3 amostras hemolíticas isoladas de dermatoses que não têm a sua étio-patogenia relacionada com os estreptococos*:
   a) 1 originária de portador de úlcera da perna por traumatismo;
   b) 1 isolada de caso de eritrodermia arsenical generalizada com infecção cutânea secundária;
   c) proveniente de liquen plano eczematizado e impetiginado.

5. *Para controle e comparação ainda estudamos quatro amostras de estreptococos cuja origem é a seguinte*:
   a) *Streptococcus pyogenes* (Dochez N. Y. 5), isolado de escarlatina;
   b) " " isolado de febre puerperal;
   c) " " " " " erisipela;
   d) " " " " " reumatismo.

Os caracteres microscópicos e culturais, em seguida enumerados, se referem exclusivamente às amostras de estreptococos isoladas de doentes de Pênfigo Foliaceo.

B) CARACTERES MICROSCÓPICOS

Estreptococos esféricos ou ovóides, reunidos em longas cadeias depois de isolados; mais raramente dispostos aos pares ou em cadeias de poucos elementos bacterianos. Gram positivos.

Bastante pleomórficos, principalmente nas sub-culturas, podendo assumir um aspecto cocobacilar ou difteróide, ou então as cadeias de estreptococos podem conter, intercaladamente, formas anômalas ou degeneradas. A forma estavel, entretanto, depois do isolamento e sempre obtida após passagem em animais, é a estreptocócica de longas cadeias.

Nas amostras extremamente virulentas, de recente isolamento, pode-se observar, às vezes, mesmo sem utilizar processos especiais de coloração, a presença de uma nítida cápsula.

Imóveis e não esporulados.

C) CARACTERES CULTURAIS

1. Agar-simples inclinado: Não se observa crescimento na superfície sólida do meio, havendo, contudo, crescimento na água de condensação existente no fundo do tubo, o que se pode verificar pela presença de um depósito branco.

2. Agar-sangue em placas: Quando o estreptococo é de recente isolamento as colônias são punctiformes, brilhantes, lisas, de cor acinzentada, apresentando ou não a orla de hemólise. Quando conservados *"in vitro"*, após sucessivos repiques, as colônias em agar-sangue perdem o seu brilho característico, tornando-se ligeiramente esbranquiçadas. Nas amostras *beta* a zona hemolítica é rigorosamente definida não se vendo, ao microscópio, eritrócitos intactos.

3. Agar-sangue em tubos: Nas amostras hemolticas, após 48 horas, a parte superior do tubo fica completamente descorada, tomando uma coloração pardacenta. Êsse descoramento vai progredindo aos poucos até atingir todo o meio.

4. Agar-soro-biliado a 5%: Ausência de crescimento.

5. Agar-sangue-biliado a 5%: Ausência de crescimento.

6. Água de peptona: Crescimento moderado, sob a forma de depósito no fundo, sem desenvolvimento de turvação e película.

7. Caldo-simples (com água de carne concentrada): Crescimento abundante sem película e turvação, sob a forma de depósito branco no fundo do tubo. Com a agitação observam-se três tipos de depósitos:

a) pulverulento: depósito fino, como que tamisado, turvando imediatamente o tubo após agitação.

b) grumoso: depósito branco, de dificil desagregação, desfazendo-se em grumos densos e compactos, turvando o meio só depois de forte agitação.

c) núveo: depósito branco que, sob agitação, se desagrega com o aspecto de nuvens brancas, espiraladas, pouco consistentes, turvando o meio mais rapidamente que o depósito *b*.

8. Caldo-glicosado e caldo-soro: Crescimento mais abundante que em caldo-simples, porém com o mesmo aspecto. Algumas amostras, mesmo depois do isolamento, têm a capacidade de turvar o meio.

9. Meio semi-sólido (Lignières): Nas primeiras 24 horas de incubação em estufa a 37° observam-se colônias esbranquiçadas seguindo o curso da alça de platina. Depois de 48 horas de crescimento, em estufa ou de mais dias na temperatura ambiente, há a formação de flóculos isolados ou de nuvens esbranquiçadas em toda a superfície do meio; o aspecto flocular é mais comum depois dos germes repicados várias vezes. Não é raro, também, observar-se um aspecto arborescente, quando a semeadura é praticada por picada.

10. Leite tornasolado: Crescimento e redução do tornasol variveis:

b) a) Coagulação perfeita e redução completa do tornasol, apresentando nítida separação do sôro e do coágulo, passando o meio de azul para branco-roseo.

b) Coagulação menor e redução completa do tornasol: o meio fica semi-sólido, assumindo uma coloração branco-rósea.

c) Ausência de coagulação e presença de redução do tornasol: o meio continúa completamente líquido, porém há redução do tornasol.

11. Leite com azul de metileno a 0,2%: Crescimento e redução do azul de metileno variáveis:

a) Coagulação e redução completas.
b) Coagulação nula e redução completa do azul de metileno.
c) Crescimento do estreptococo sem alteração aparente do meio.

12. Gelatina-sôro em picada: Crescimento filiforme, escasso. Não liquefaz.

D) CARACTERES ECOLÓGICOS (Quadro XVIII)

1. *Relação com a temperatura*:

a) Temperatura ótima: 37°.
b) Temperatura máxima: Não resistem a 60° durante 30 minutos.
c) Crescimento em temperatura de 45° durante 48 horas: Não houve crescimento.
d) Temperatura mínima: Não crescem a 10°.

2. *Necessidade de oxigênios*: Anaeróbios facultativos. Crescem melhor em aerobiose.

3. *Crescimento em meio líquido hipertônico, contendo 6,5% de cloreto de sódio*: Ausência de crescimento.

4. *Crescimento em meio líquido com pH a 9,6, durante 48 horas em estufa a 37°*: Ausência de crescimento.

E) CARACTERES BIOQUÍMICOS (Quadro XVIII)

1. *Bile-solubilidade*: Insoluveis em bile de boi.

2. *Hidrólise do hipurato de sódio*: Não hidrolisam o hipurato de sódio. Apenas um estreptococo de controle (amostra 69B), isolado de úlcera de perna, deu reação positiva.

3. *Produção de amônia*: Produzem amônia de peptona. A amostra *viridans* identificada (estrept 27), deu resultado positivo, após alguns minutos (reação tardia).

4. *Produção de indol*: Negativa.
5. *Reação da catalase*: Negativa.
6. *Prova da redutase*: Negativa.
7. *Redução dos nitritos a nitratos*: Não reduzem.

8. *Ação sôbre o leite tornasolado*: A maioria das amostras isoladas de Pênfigo coagulam o leite e reduzem o tornasol; outras coagulam parcialmente o leite, reduzindo completamente o tornasol; algumas só reduzem o tornasol ou são indiferentes sôbre o meio. Os estreptococos de controle tiveram o mesmo comportamento.

9. *Ação sôbre o leite com azul de metileno*: A maioria das amostras procedentes de portadores de Pênfigo não alteraram o meio; algumas coagularam e reduziram o azul de metileno, com maior ou menor intensidade; outras só reduziram o azul de metileno. O mesmo comportamento foi verificado nos estreptococos de controle.

10. *Ação sôbre os hidratos de carbono*: Meio de cultura: caldo concentrado de carne livre de assucar, com pH a 8,0.

Indicador: Vermelho de fenol a 0,04%.

a) Ação sôbre os monosacarideos:

1. Dextrose: Acidificação.
2. Levulose: Acidificação.
3. Galactose: Acidificação.
4. Manose: Acidificação.
5. Arabinose: Sem ação.
6. Xilose: Sem ação.

b) Ação sôbre os disacarídeos:

7. Sacarose: Acidificação.

8. Maltose: Acidificação.

9. Lactose: Acidificação. Três amostras procedentes de Pênfigo foram sem ação (estrepts. 288, 305 e 333). Nos controles, o estreptococo 404 (isolado de sarcoma do braço) não acidificou a lactose.

10. Trealose: Acidificação.

11. Melibiose: Sem ação.

c) Ação sôbre os trisacarídeos:

12. Rafinose: Sem ação. O estreptococo 90, do grupo *alfa*, acidificou êsse hidrato de carbono. Os estreptococos 27 (viridescente) e 200 (hemolítico), ambos procedentes de casos de Dermatite de Duhring, também acidificaram a rafinose.

d) Ação sôbre os polisacarídeos:

13. Dextrina: Acidificação.

14. Inulina: Sem ação.

15. Amido: Acidificação.

e) Ação sôbre os alcoes:

16. Eritrita: Sem ação.

17. Manita: Sem ação. A amostra 677, isolada de um caso de liquen plano eczematizado e liquenificado, produziu fermentação desse açucar.

18. Glicerina: Acidificação facultativa.

19. Sorbita: Sem ação. O estreptococo 69B, isolado de úlcera de perna promoveu a formação de ácido.

20. Dulcita: Sem ação.

21. Adonita: Sem ação.

22. Ramnose: Sem ação. O estreptococo de controle (69B) produziu fermentação.

f) Ação sôbre os glicósides:

23. Salicina: Acidificação.

24. Amigdalina: Sem ação. Os estreptococos piogênicos do reumatismo e erisipela produziram acidificação.

25. Inosita: Sem ação.

26. Esculina: Acidificação facultativa.

11. Ação sôbre os protídeos:

1. Nutrose: Sem ação.

2. Glicina: Sem ação.

## F) AÇÃO PATOGÊNICA (Quadro XVIII)

1. *Método de estudo*:

Ao lado dos caracteres culturais, ecológicos e bioquímicos dos estreptococos estudamos a ação patogênica.

Os germes logo depois do seu isolamento eram inoculados em animais de laboratório, utilizando-se culturas jovens de 18 a 24 horas.

Só consideramos *amostra virulenta* ou seja um *resultado positivo*, quando o estreptococo era recuperado em necrópsia. Para isso morto qualquer animal, realizávamos imediatamente a necrópsia, dentro dos preceitos da técnica bacteriológica. As semeaduras eram feitas de sangue do coração em placas de agar-sangue, caldo-glicosado ou caldo-sôro e meio anaeróbio (caldo Tarozzi). Dos animais que apresentavam maior interesse praticávamos também culturas de material de baço e fígado ou de abcessos e derrames cavitários, quando existentes.

Os animais eram vistoriados diariamente e os que sobreviviam eram suspensos depois de um período de 60 a 90 dias de observação.

Para a pesquisa e exaltação da virulência inoculamos, até o presente momento, cerca de 484 animais, assim distribuidos:

I — 77 coelhos.
II — 87 cobáios.
III — 180 ratos albinos.
IV — 140 camondongos albinos.

2. *Vias de introdução e quantidades inoculadas*:

Depois de uma série de experiências preliminares, escolhemos a via peritoneal como padrão.

As quantidades inoculadas foram as seguintes:

| | |
|---|---|
| para coelhos ........................ | 5 cm³ |
| " cobáios ........................ | 2,5 cm³ |
| " ratos ........................ | 2 cm³ |
| " camondongos .................. | 1 cm³ |

Foram feitos controles, inoculando-se meio de cultura esteril para se verificar que as doses adotadas eram inócuas.

Injetamos sempre mais de um rato ou camondongo para cada amostra.

Outras vias de inoculação foram utilizadas, como a dérmica (por escarificação), subcutânea, nervosa (cisternal e transocular), pulmonar etc.. Procurou-se ainda provocar infecções crônicas experimentais com vários artifícios técnicos, observando-se as alterações patológicas internas e cutâneas. Todavia, essas pesquisas não serão tratadas no presente trabalho. Os dados aqui referidos se relacionam exclusivamente aos resultados obtidos pelo uso da via peritoneal.

3. *Resultados*:

a) Percentagem de virulência dos estreptococos isolados de Pênfigo:

| | | |
|---|---|---|
| Em | coelhos | 26,1% |
| " | cobáios | 35,7% |
| " | ratos | 69,0% |
| " | camondongos | 90,4% |

b) Virulência dos estreptococos de controle:

Com exceção do estrept. 317 (isolado em necrópsia de caso de tuberculose pulmonar), as outras amostras mostraram-se virulentas para animais de laboratório, sobretudo para camondongos, tendo, portanto, o mesmo comportamento das de Pênfigo.

c) Observações:

— Apenas três amostras de estreptococos hemolíticos originárias de penfigosos foram totalmente desprovidas de virulência: as de número 243, 288 e 687, todas isoladas por hemocultura.

— O estreptococo 90, classificado por nós no grupo *gama*, mostrou-se avirulento.

— O estreptococo 27, viridescente, isolado por hemocultura de caso de Dermatite de Duhring, foi virulento para camondongos. O estreptococo 45, hemolitico, procedente do mesmo caso, em líquido de bolhas, foi patogênico para ratos e camondongos.

— A amostra 200, hemolítica, insulada de exuberante caso de Dermatite de Duhring, era dotada de extrema virulência.

— Temos duas discrepâncias a assinalar: os estreptococos 46 e 368, não hemolíticos "in vitro", eram virulentos. Acredita-se que a virulência esteja relacionada à produção de hemolisina, sendo os estreptococos inertes considerados não virulentos.

d) Alterações anátomo-patológicas macroscópicas:

Os animais geralmente morrem nas primeiras 24 a 48 horas com peritonite aguda, habitualmente acompanhada de abundante coleção purulenta.

Muito comuns são as pleurites e pericardites com derrame purulento e hemorrágico, mormente nos ratos e camondongos.

Nos animais em que a morte sobrevem tardiamente observam-se, entre outras alterações, as seguintes: extremo emagrecimento; congestão pulmonar intensa de ambos pulmões; micro-abcessos no fígado, baço, pulmões e mais raramente no coração (séptico-piemia); enfartamento ganglionar; hiperemia das suprarrenais.

Em alguns coelhos notou-se a formação de abcessos no ponto de inoculação, que resulta, frequentemente, em extensa e profunda ulceração (Fig. 24).

FIG. 24
Coelho injetado com cultura viva de estreptococo isolado de Pênfigo. Formação de escara no ponto de inoculação.

G) CLASSIFICAÇÃO SOROLÓGICA (Quadro XVIII)

As técnicas seguidas foram as recomendadas por Lancefield (32) e por Wadsworth (33).

1. *Meio de cultura:*

| | |
|---|---|
| Cloreto de sódio .......................... | 5 g |
| Fosfato monopotássico .......................... | 1 g |
| Fosfato dipotássico .......................... | 1 g |
| Peptona bacteriológica (Parke-Davis) ...... | 20 g |
| Água .......................... | 1000 cm³ |

Dissolver em 500 cm³ de água o NaCl e depois a peptona. Os sais são dissolvidos à parte, em pequenas porções de água. Misturar todos os ingredientes e juntar água até completar 1 litro. Ajustar o pH para 7,8. Autoclavar em vapor fluente durante 40 minutos. Juntar solução esteril de assucar de cana ou de dextrose na proporção de 0,75%. Filtrar. Distribuir em vidros contendo 50 cm³ do meio. Autoclavar 10 minutos a 100°. Prova de estufa durante 5 dias.

2. *Preparação do extrato:*

Semear 4 cm³ de cultura de 24 horas em 50 cm³ da água de peptona tamponada. Incubar em estufa a 37° durante 24 horas. Verificar a pureza. Centrifugar. Lavar os germes com 50 cm³ de salina fisiológica esteril. Centrifugar. Suspender o sedimento bacteriano em 2 cm³ de solução N/20 de NaCl em salina

Quadro XVIII

IDENTIFICAÇÃO DOS ESTREPTOCOCOS

| No. do strept. | Material isolado | Forma e Diagnóstico Clínico | Hemólise | Crescimento: 45° | Crescimento: 10° | Crescimento: NaCl 6.5% | Crescimento: pH 9.6 | Crescimento: Agar sangue biliado | Bile solubilidade | Hipurato | Amônia | Indol | Catalase | Redutase | Nitritos | Leite torn.ado | Leite azul met.ado | Dextrose | L.vulose | Galactose | Manose | Arabinose | Xilose | Sacarose | Maltose | Lactose | Trealose | Melibiose | Rafinose | Dextrina | Inulina | Amido | Eritrita | Manita | Glicerina | Sorbita | Dulcita | Adonita | Ramnose | Salicina | Amigdalina | Inosita | Esculina | Nutrose | Glicina | Virulencia: Coelhos | Virulencia: Cobaios | Virulencia: Ratos | Virulencia: Camundongos | Sorologia (Microprecipitação Lancefield) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14 | Sangue | Forma distrófica | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | — | † | A |
| 22 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | — | † | A |
| 58 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | cr | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | † | † | † | † | A |
| 71 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | † | † | A |
| 132 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | cr | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | † | † | † | † | A |
| 141 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | † | † | † | A |
| 142 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | AL | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | † | † | † | † | A |
| 164 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — |  | † |  |
| 207 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | † | † | † | A |
| 243 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — |  |  |  |  | A |
| 282 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | AL | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | † | — | † | † | A |
| 288 | Sangue | Derm. em regressão | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | AL | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — |  |  | — |  | A |
| 297 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | † | — | † | † | A |
| 298 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | † | † | † | A |
| 305 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | cr | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † | A |
| 333 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † | — | † | † | A |
| 689 | Sangue | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — |  |  | A |
| 16 | Crostas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — |  |  | † | A |
| 17 | Crostas | Forma distrófica | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | † | † | A |
| 307 | Crostas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — |  |  | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † |  |
| 320 | Crostas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ALCP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † | † | † | † | A |
| 335 | Crostas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — |  |  | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † |  |
| 336 | Crostas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | † | † | † | A |
| 153 | Liq. bolhas | Invasão bolhosa | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † | † | † | † | A |
| 276 | Liq. bolhas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † | A |
| 330 | Liq. bolhas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | — | † | A |
| 332 | Liq. bolhas | Invasão bolhosa | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | † | † | † | A |
| 371 | Liq. bolhas | Invasão bolhosa | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † | A |
| 689 | Liq. bolhas | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † |  |  | † | A |
| 219 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — |  |  | † | A |
| 247 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | cr | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | † | † | A |
| 248 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | † | † | A |
| 269 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | † | — | † | † | A |
| 290 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | † | † | A |
| 291 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | AL | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | † | † | A |
| 292 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | r | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | † | † | † | † | A |
| 293 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | † | † | † | A |
| 316 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † | A |
| 352 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | † | † | † | A |
| 46 | Crostas | Invasão bolhosa | γ | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | † | — | † | A |
| 90 | Sangue | Forma frusta | γ | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | ac | — | — | — | — | — | — | A |
| 368 | Necrópsia | Derm. crônica gen. | γ | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | † | † | † | A |
| 27 | Sangue | Derm. Duhring | α | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ALCT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | † | A |
| 45 | Bolha | Derm. Duhring | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACP | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † | A |
| 200 | Bolha | Derm. Duhring | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † | † | † | † | A |
| 698 | Pus | Ulcera perna | β | — | — | — | — | — | — | + | + | — | — | — | — | ACH | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | — | — | Ac | — | — |  |  |  |  | A |
| 677 | Crostas | Liquen plano | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † | — | † | † | A |
| 690 | Crostas | Eritr. arsenical | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | Ac | — | — | — | — | — | † | A |
| 317 | Necrópsia | Tbc. pulmonar | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | — |  | A |
| 404 | Necrópsia | Sarcoma | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — | R | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | † | † | A |
| 28 | — | Escarlatina | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — |  |  |  |  | A |
| 98 | — | Febre puerperal | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | AL | R | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | — | — | Ac | — | — | — | — | — |  |  |  |  | A |
| 528 | — | Reumatismo | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — |  |  |  |  | A |
| 558 | — | Erisipela | β | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | ACT | CR | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | Ac | Ac | Ac | — | — | Ac | — | Ac | — | Ac | — | — | — | — | — | Ac | Ac | — | Ac | — | — |  |  |  |  | A |

fisiológica. Ferver durante 20 minutos em banho-maria. Esfriar rapidamente em água corrente. Centrifugar. O sobrenadante é retirado e neutralizado. A neutralização é feita juntando-se 0,05 $cm^3$ de indicador (azul de bromo-timol) em 2 $cm^3$ do sobrenadante. Ajustar o pH entre 7,0 a 7,2 com solução N/1 de NaOH. Centrifugar de novo. O fluido obtido é extrato pronto para as provas de precipitação.

O extrato deve ser feito somente de culturas que apresentarem crescimento abundante.

3. *Imunização de coelhos para o preparo de anti-sôro grupo-específico*:

Para a preparação de imuno-sôros do grupo A, tanto faz usar antígenos obtidos de culturas mortas pelo formol (percentagem do formol = 0,2%), como culturas aquecidas a 56° durante 1 hora. Para a preparação de sôros específicos para todos os outros grupos, as culturas mortas pelo formol respondem melhor.

Os coelhos recebem na 1.ª semana, durante 5 dias seguidos, 1 $cm^3$ de cultura total, por via intravenosa. Descanso de uma semana. Na 3.ª semana dobrar a quantidade (2 $cm^3$), injetando-a durante o mesmo número de dias. Novo repouso de uma semana. Na 5.ª semana as doses são aumentadas para 4 $cm^3$, que também são injetadas diariamente durante 5 dias. Ao fim de uma semana fazer sangria de prova, colhendo sangue da veia marginal da orelha. Se o título precipitante for satisfatório puncionar o coração do coelho, com seringa seca ou lavada em salina fisiológica, para evitar-se o menor traço de hemólise, colhendo-se 20 ou mais $cm^3$ de sangue. Separar imediatamente o sôro por centrifugação, em condições assépticas. Ampolar e conservar em geladeira.

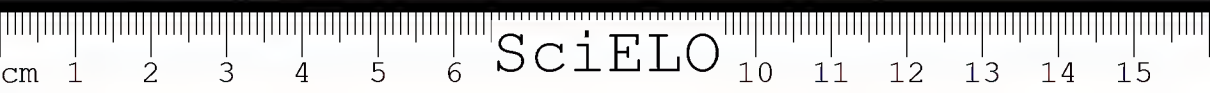
Se a imunização precisar ser continuada deve-se aumentar as doses, injetando-as, porém, em volume reduzido. Para isso centrifugar as culturas e suspender o sedimento obtido em caldo ou salina, num volume de 1 a 2 $cm^3$.

Os animais podem sofrer nova imunização depois de 2 ou mais meses e respondem satisfatòriamente a uma única série de injeções. Não há necessidade de ultrapassar a dose de 4 $cm^3$ ou de inocular microorganismos vivos. Tomar precauções para evitar choque anafilático, injetando, antes do início de outra imunização, pequena quantidade da cultura por via peritoneal ou subcutânea.

Os coelhos adultos, pesando mais de 2 quilos, são mais resistentes. Imunizar sempre mais de um animal.

Os nossos sôros grupo-específicos foram previamente comparados com sôros para os grupos A, B, e C da classificação Lancefield, do "Lederle Laboratories Inc.", de New York (N. Y.), EE. UU.. (*)

---

(*) Parte dêsses sôros foram fornecidos pelo Dr. F. W. Eichbaum, assistente do Departamento de Microbiologia da Escola Paulista de Medicina. Agradecemos a sua contribuição.

4. *Técnica da micro-precipitação*:

Os tubos apropriados para a micro-precipitação, segundo Lancefield (32), são feitos de varas de vidro com 7 mm de diâmetro, que são afilados na chama até se conseguir o diâmetro de 3 mm, de modo que 0,1 $cm^3$ forme uma coluna com a altura de 8 a 10 mm.

Pipeta-se 0,05 $cm^3$ do anti-sôro grupo-específico e coloca-se no tubo pelas paredes. Adiciona-se 0,05 $cm^3$ do extrato bacteriano pela mesma técnica, sem qualquer agitação.

A precipitação positiva se caracteriza pela presença de um anel esbranquiçado no ponto de junção do sôro e extrato. Em regra a reação é quasi instantânea; mas sempre nova leitura deve ser feita ao fim de ½ hora. Havendo ausência de precipitação, incubar em banho-maria a 37° durante duas horas. Fazer nova leitura findo êsse prazo. A leitura depois de 24 horas de permanência em geladeira consideramos dispensavel.

A técnica aconselhada por Lancefield é colocar em primeiro lugar o extrato de germes e depois o sôro, que sendo mais pesado vai formar a camada inferior. Tivemos melhores resultados fazendo o inverso, onde a formação de duas camadas distintas é absolutamente nítida, facilitando a leitura.

5. *Resultados*:

Grupamos sorologicamente 39 estreptococos isolados de casos de Pênfigo Foliaceo e 12 de outra origem, como se pode ver no Quadro XVIII.

Com exceção de uma única amostra (estrept. 288), todas as provenientes de Pênfigo foram classificadas no grupo A, inclusive as gama-hemolíticas.

O comportamento pela micro-precipitação dos 12 estreptococos de controle, foi o seguinte:

a) Incluidos no grupo A (hemolíticos):

Estrept. 45, isolado de líquido de bolhas de um caso de Dermatite de Duhring;

Estrept. 200, isolado de líquido de bolhas de um caso de Dermatite de Duhring;

Estrept. 317, isolado de necrópsia de um caso de tuberculose pulmonar;

Estrept. 404, isolado de necrópsia de caso de sarcoma do braço com metástases generalizadas;

Estreptococos piogênicos provenientes de escarlatina (Dochez, N. Y. 5), febre puerperal, reumatismo e erisipela.

b) Não classificados sorológicamente:

Estrept. 27, *alfa*-hemolítico, isolado por hemocultura de um caso de Dermatite de Duhring;

Estrept. 69B hemolítico, isolado de pus de úlcera da perna;

Estrept. 677, hemolitico isolado de crostas melicéricas de um doente de liquen plano impetiginado.

## H) COMENTARIOS

Os estreptococos hemolíticos isolados de Pênfigo Foliaceo possuem caracteres morfológicos, ecológicos, bioquímicos, patogênicos e sorológicos semelhantes à espécie *Streptococcus pyogenes* Rosenbach, espécie tipo do gênero *Streptococcus*.

Os seus caracteres primordiais podem ser assim resumidos:

Produzem hemólise do tipo *beta*.

Pertencem ao grupo sorológico A da classificação de Lancefield.

Não crescem: a 10°, a 45°, em meio com 6.5% de NaCl, em meio com pH a 9.6 e em agar-sangue biliado.

Insoluveis em bile.

Não hidrolizam o hipurato de sódio.

Produzem amônia de peptona.

Acidificam: dextrose, levulose, galactose, manose, sacarose, maltose, lactose, trealose, dextrina, amido, salicina.

Não acidificam: arabinose, xilose, melibiose, rafinose, inulina, eritrita, manita, sorbita, dulcita, adonita, ramnose, amigdalina, inosita, nutrose, glicina.

Acidificam facultativamente: glicerina e esculina.

Virulentos, por via peritoneal, para coelhos (26,1%), cobáios (35,7%), ratos (69%) e camondongos (90,4%).

Produzem uma toxina eritematogênica.

Digerem a fibrina humana.

Isolados de sangue, eflorescências epidérmicas e de material necrótico de doentes de Pênfigo Foliaceo.

* * *

Na identificação dos estreptococos isolados de portadores de Pênfigo Tropical houve poucas discordâncias. Assinalemos as principais:

1.°) Apenas três amostras isoladas do sangue não fermentaram a lactose: as de No. 288, 305 e 333.

2.°) Totalmente avirulentas para animais de laboratório foram os estreptococos 243, 288 e 689, todos isolados por hemocultura.

3.°) O estrept. 288 não é fibrinolítico, como veremos adiante, e não foi classificado nos grupos sorológicos A, B e C.

Identificamos apenas três estreptococos inertes em agar-sangue. Duas eram virulentas (estrept. 46 e 368) e os seus caracteres, afóra a produção de hemó-

lise, eram iguais aos *beta*-hemoliticos. O estrept. 90, isolado por hemocultura de um caso frusto, era avirulento e fermentou a rafinose.

* * *

Nos controles, os *Strept. pyogenes* 52B e 55B fermentaram a manita e a amigdalina. Topley & Wilson (56) assinalam que os estreptococos do grupo A raramente fermentam a manita; sôbre a acidificação da amigdalina não encontramos referência.

O estreptococo *alfa*-hemolitico 27 não fermentou a salicina, fermentou a rafinose e produziu a amônia de peptona; o seu extrato não sofreu precipitação em face dos sôros A, B e C. Entretanto, o *Strept.* 45, *beta*-hemolítico, isolado da mesma doente (J. A., obs. 404, diag.: Dermatite Herpetiforme de Duhring), no liquido de bolhas, foi incluido no grupo A.

O estrept. hemolitico 677, não foi classificado sorològicamente, apesar do seu comportamento ecológico e bioquimico ser idêntico ao *Streptococcus pyogenes*.

O estrept. 69B, *beta*-hemolitico, hidrolizou o hipurato de sódio, fermentou a manita, rafinose, sorbita e ramnose e não foi incluido nos grupos sorológicos A, B e C.

## CAPITULO IX

## PESQUISAS SOBRE AS TOXINAS DOS ESTREPTOCOCOS HEMOLÍTICOS ISOLADOS DE DOENTES DE PÊNFIGO FOLIACEO

### A) LIGEIRAS CONSIDERAÇÕES

Sabe-se que o *Streptococcus pyogenes* produz as seguintes toxinas, enzimas ou substâncias "agressivas":

1.º — A *hemolisina, hemotoxina estreptocócica* ou *estreptolisina* (*Blutgift*), que tem a propriedade de lisar os glóbulos vermelhos "*in vitro*"; acredita-se que também possa causar a anemia secundária observada nas infecções estreptocócicas agudas ou crônicas. Todd (34) demonstrou que os estreptococos hemolíticos do grupo A produzem duas variedades sorológicas de estreptolisina: a *estreptolisina O*, assim chamada devido a sua sensibilidade ao oxigênio, e a *estreptolisina S*, cuja denominação indica a sua solubilidade no sôro. A estreptolisina O é antigênica porem a estreptolisina S não é aparentemente antigênica, quando separada do corpo bacilar. As duas estreptolisinas são neutralizadas pelos seus respectivos anticorpos: a *anti-estreptolisina O* e a *anti-estreptolisina S*. Quando os animais são inoculados com culturas vivas de estreptococos hemoli-

ticos do grupo. A, há produção de anticorpos para as duas variedades de estreptolisinas.

2.º — A *toxina eritematogênica* ou *eritrogênica* (*Hautgift* ou *Kutangift*), responsavel pelo eritema observado na escarlatina, erisipela e em outras infecções produzidas pelos estreptococos hemoliticos. E' também chamada de *toxina de Dick* (35), por ter êsse autor primeiramente observado que, na escarlatina, tal toxina, em injeção intra-dérmica, produz uma área eritematosa local, verificavel somente nos indivíduos suscetiveis, não imunizados (*reação de Dick*). A toxina eritematogênica não é peculiar aos estreptococos da escarlatina, podendo ser isolada de outros estreptococos hemolíticos (erisipela, febre puerperal, etc.). A reação cutânea pode ser observada em animais de laboratório, mas não com a sensibilidade e intensidade apresentada pelos indivíduos humanos. Diferencia-se da hemotoxina por ser relativamente termo-resistente e dotada de grande estabilidade.

3.º — A *leucocidina* que possue uma ação destrutiva sôbre os granulócitos. Póde ser doseada pelo *método bioscópico* (redução do azul de metileno). Provavelmente relacionada a esta substância é a *toxina organo-necrosante* (*Organgift*).

4.º — A *fibrinolisina* que é uma enzima descrita, em 1933, por Tillet & Garner (36) e que tem a capacidade de dissolver a fibrina humana. A fibrinolisina é secretada com constância pelos estreptococos hemoliticos do grupo A de Lancefield. A fibrinólise, segundo Tillet & Garner, é uma reação especifica, por meio da qual se podem diferenciar os estreptococos patogênicos dos saprófitas.

5.º — Uma substância que aumenta a permeabilidade cutânea — o "*spreading factor*" de Duran--Reynalds (37).

6.º — A *leucotaxina* de Menkin (38), que é capaz de lesar os capilares sanguíneos, aumentando a permeabilidade e produzindo edema e trombos linfáticos de fibrina: provavelmente esta substância está relacionada ao fator de difusão de Duran-Reynalds.

Segundo Bier (39) as relações entre êsses vários efeitos não estão ainda completamente esclarecidas.

O nosso estudo se restringe, por enquanto, à pesquisa da *hemólise*, da *toxina eritematogênica* e da *fibrinolisina*, que são, entre as substâncias secretadas pelos estreptococos *beta*-hemolíticos, as mais facilmente demonstráveis.

Ainda inoculamos uma grande série de animais de laboratório, pelas mais diversas vias, a-fim-de verificar a toxicidade de filtrados das culturas de estreptococos hemolíticos, contendo a toxina eritematogênica.

## B) AÇÃO ERITROCITOLÍTICA

No capítulo anterior estudamos e verificamos a produção de hemólise em 39 estreptococos isolados do sangue, de eflorescências epidérmicas e de necrópsias de casos de Pênfigo Tropical. Descrevemos que a produção de hemolisina produziu uma área de clareamento do sangue em torno das colônias, não se vendo, pelo exame microscópico, glóbulos vermelhos intactos. Utilizamos para essas pesquisas agar-simples adicionado de 5% de sangue desfibrinado de coelho ou de carneiro. Por ser difícil obtermos rotineiramente sangue desfibrinado de cavalo normal, não seguimos as recomendações de Brown (40), que aconselha, para a verificação da atividade hemolítica dos estreptococos, trabalhar sempre com sangue daquele animal. Todavia, realizamos numerosos controles, usando comparativamente sangue de cavalo, e nunca tivemos qualquer discrepância nos nossos resultados.

*Comparação da hemólise produzida em agar-sangue emplacado com a obtida em meio líquido.*

Técnica: Adicionar a 0.5 cm³ de cultura de 18 horas de estreptococos (em caldo de carne concentrado ou caldo-glicosado), 0,5 cm³ de hemátias lavadas de carneiro. Incubar em banho-maria a 37°. Leituras após ½, 1, 1½ e 2 horas. No dia anterior, as mesmas amostras devem ser semeadas em placas de agar-sangue.

Quadro XIX

VERIFICAÇÃO DE HEMÓLISE EM MEIO LIQUIDO

| No. do estrept. | Leitura após ½ hora | Leitura após 1 hora | Leitura após 1 ½ h. | Leitura após 2 horas |
|---|---|---|---|---|
| 14 | 1 + | 3 + | 4 + | 4 + |
| 16 | 2 + | 2 + | 2 + | 2 + |
| 17 | 1 + | 3 + | 4 + | 4 + |
| 22 | 4 + | 4 + | 4 + | 4 + |
| 45 | 1 + | 2 + | 3 + | 4 + |
| 58 | 4 + | 4 + | 4 + | 4 + |
| 90 | — | 1 + | 2 + | 2 + |
| 71 | — | 1 + | 3 + | 4 + |
| 142 | — | — | 3 + | 4 + |
| 153 | — | 2 + | 2 + | 2 + |
| Estrpt. inerte | — | — | — | — |
| Estrept. viridans (27) | — | — | — | — |
| Test. salina | — | — | — | — |
| Test. caldo | — | — | — | — |

Quadro XX

VERIFICAÇÃO DE HEMÓLISE EM PLACAS DE AGAR-SANGUE

| N.º do estrept. | 24 hrs. em temperatura ambiente | Incubação a 37° durante 24 hrs. | Prolongamento da observação a 5°, durante 24 hrs. |
|---|---|---|---|
| 14 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 16 | — | 4 + | 4 + |
| 17 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 22 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 45 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 58 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 90 | — | — | — |
| 71 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 142 | 4 + | 4 + | 4 + |
| 153 | — | 4 + | 4 + |
| Estrept. inerte | — | — | — |
| Estrept. *viridans* (27) | — | *viridans* | *viridans* |

Parece-nos que o método da placa é superior à pesquisa da hemólise em meio liquido.

Os estreptococos 16 e 153, fortemente hemoliticos em agar-sangue emplacado, produziram fraca hemólise em meio liquido.

O estreptococo 27, do grupo *alfa*, foi indiferente em caldo.

A amostra 90, anhemolitica em placas de agar-sangue, produziu ligeira hemólise em meio liquidó. Entretanto, o prolongamento da observação das placas em geladeira, como também verificações posteriores, confirmaram o mesmo resultado. Por êsses fatos classificamos o estreptococo 90 como pertencente ao grupo *gama*.

A verificação da hemólise é pesquisa delicada e influenciavel por vários fatores, devendo ser feita com o máximo cuidado técnico. A perda da capacidade hemolitica em nossa opinião, é sempre paralela à perda da virulência. As amostras conservadas em coleção, com repiques contínuos, sem passagem em animais, tendem a tornar-se indiferentes em agar-sangue e avirulentas.

## C) AÇÃO ERITEMATOGÊNICA E TOXICIDADE PARA PEQUENOS ANIMAIS

### 1. Produção da toxina

a) *Meio de cultura utilizado* (33):

| | |
|---|---|
| Carne de vitelo ........................ | 425 g |
| Peptona-proteose "Difco" ............ | 20 g |
| Cloreto de sódio ..................... | 5 g |
| Água ................................. | 1000 cm³ |
| Glicose P. A. ......................... | 0,02% |

Ajustar o pH para 8.2. Autoclavar a 120º durante 20 minutos. Refazer o volume inicial. Ajustar o pH para 8.0. Filtrar em papel N.º 40. Distribuir e esterilizar a 110º durante 20 minutos. Adicionar, no momento de usar, a solução esteril de glicose, na proporção acima referida.

b) *Preparo da toxina*:

Semear amostras selecionadas de estreptococos hemoliticos, de recente isolamento ou com virulência exaltada, no meio de cultura em apreço. Incubar em estufa a 37º durante 7 dias. Filtrar em papel de filtro e em seguida em vela Berkefeld V. Colocar o filtrado obtido em geladeira a 5.º em vidros neutros e escuros, durante dois meses, sob a camada de toluol, para a estabilização da toxina. Ao fim dêsse prazo proceder nova filtração em vela Berkefeld N. retirando-se antes o toluol. Fenicar a 0,5%. Colher assepticamente pequena quantidade da toxina, para sua padronização e verificação de sua esterilidade.

c *Padronização da toxina* (41):

A toxina obtida com o estreptococo da escarlatina (amostra Dochez N. Y. 5, geralmente usada para a reação intra-dérmica de Dick), é assim padronizada: Injeta-se 0.1 cm³ da toxina em várias diluições (1:10.000, 1:7.500, 1:5.000, etc.), por via intra-dérmica, em indivíduos sensiveis, avaliando-se o seu título em unidades cutâneas (*skin test dose*). A presença de área eritematosa, 20 a 24 horas após a injeção, indica reação positiva. Os necessários controles devem ser feitos na mesma ocasião, injetando-se, em regra, idênticas diluições do meio de cultura isento de germes.

d) *Padronização de toxinas obtidas de estreptococos hemoliticos isolados de doentes de Pênfigo Tropical*:

Para as nossas pesquisas iniciais, aqui referidas, utilizamos filtrados recentes, não fenicados, de estreptococos hemoliticos e virulentos, do grupo A de Lansefield, isolados de hemoculturas.

Em dois filtrados (estrepts. 58 e 71), fizemos a padronização por via intradérmica num grupo de 5 pessoas normais. Somente num único individuo tivemos reação fortemente positiva (eritema de mais de 40 mm de diâmetro), na diluição de 1:5.000; êsse individuo é tambem sensivel à toxina escarlatínica, tendo reagido com filtrado da amostra Dochez N. Y. 5, na diluição de 1:2.000.

Infere-se, pois, que a toxina dos estreptococos 58 e 71 contém 50.000 S.T.D. por $cm^3$. A toxina do estreptococo 142, hemolítico, virulento, do grupo A de Lancefield e também isolado de hemocultura, não foi padronizada em indivíduos humanos.

## 2. Inoculação em animais de laboratorio
(Quadro XXI)

As provas de inoculação foram realizadas com toxinas eritematogênicas dos estreptococos 58, 71 e 142. Esses germes sofreram, previamente, exaltação de sua virulência, matando camondongos em 24 horas, com septicemia fulminante, na diluição de $10^{-6}$, por via peritoneal.

Utilizamos 183 animais, assim distribuidos:

a) *21 coelhos* brancos ou de pelagem clara, pesando entre 1.200 a 1.800 g, inoculados pelas seguintes vias: intradérmica *5*, subcutânea *5*, venosa *4*, peritoneal *3* e transocular *4*;

b) *19 cobáios*, brancos ou malhados, pesando entre 250 a 200 g, inoculados pelas seguintes vias: intradérmica *3*, subcutânea *8*, peritoneal *5* e transocular *3*;

c) *41 ratos albinos*, pesando de 120 a 150 g, inoculados pelas seguintes vias: intradérmica *8*, subcutânea *6*, peritoneal *9*, venosa *11*, cerebral *4* e transocular *5*;

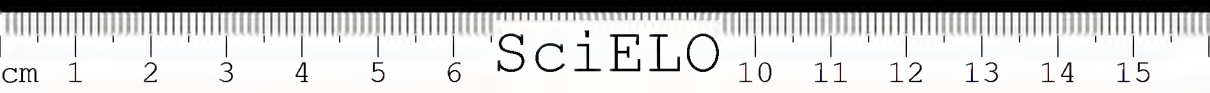
d) *102 camondongos albinos*, pesando de 15 a 18 g, inoculados pelas seguintes vias: intradérmica *9*, subcutânea *21*, peritoneal *36*, venosa *18* e cerebral *18*.

O periodo mínimo de observação dos animais foi de 30 dias.

As quantidades inoculadas, as várias diluições injetadas por via intradérmica e demais ocorrências constam no Quadro XXI.

Os coelhos e cobáios inoculados pelas vias intradérmica e subcutânea foram, antes da inoculação, depilados com pasta de sulfureto de bário. As injeções só foram praticadas depois de verificada a ausência de qualquer irritação da pele.

## 3. Resultados

a) Na prova de padronização das toxinas demonstramos que os estreptococos hemolíticos do Pênfigo Foliaceo, à semelhança dos outros estreptococos

hemoliticos do grupo A de Lancefield, produzem uma toxina eritematogênica, verifiticada em indivíduo humano sensivel. A inoculação de filtrado de estreptococos, na diluição de 1:5.000, provocou 24 horas depois, uma reação positiva. A área eritematosa se manteve durante vários dias, desaparecendo sem deixar qualquer vestígio; a regressão se iniciou ao fim de 72 horas.

b) Coelhos:

As toxinas 58 e 71, provocaram a formação de eritema, quando inoculadas por via intradérmica; as reações variaram de acordo com a sensibilidade de cada animal. Um coelho reagiu com a diluição de 1:50 da toxina 71. A toxina 142, no único coelho inoculado pela via intradérmica (N.º 515), foi inócua.

Pela via subcutânea as toxinas 58 e 71 deram reações fortemente positivas, que se caracterizaram por intenso edema e eritema; em um coelho (N.º 547), houve formação de escara depois de 72 horas; em outros dois (N.º 574 e 569, Fig. 25), observou-se derrame sanguíneo local, 24 horas depois da inoculação que regrediu espontaneamente após alguns dias, sem deixar o menor sinal.

Fig. 25
Derrame sanguineo em coelho inoculado pela via subcutânea.

Pelas vias venosa e transocular as toxinas não provocaram qualquer reação geral; dois coelhos (N.º 501 e 532) faleceram devido a infecções intercurrentes.

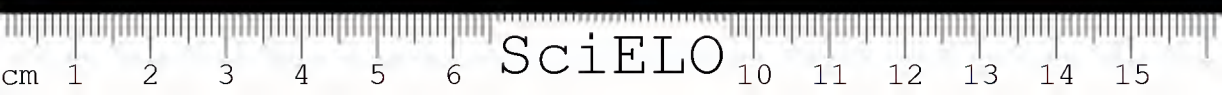
Pela via peritoneal podemos considerar as toxinas como destituidas de ação tóxica, visto que o único coelho da série que veio a falecer (N.º 533), não apresentava alterações anátomo-patológicas evidentes.

c) Cobáios:

As toxinas injetadas pela via intradérmica deram reação negativa.

QUADRO XXI

## ANIMAIS INOCULADOS COM TOXINA DE ESTREPTOCOCOS ISOLADOS DE PENFIGO FOLIACEO

| Animal | Nº ficha | Toxina inoculada | Via | Quant. | RESULTADO | OBSERVAÇÕES E OCORRENCIAS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Coelho | 500 | Str. 71 Pura | intr. | 0,2 | Positiva (+++): grande área eritematosa | Sobreviveu |
| | | 1/50 | | | Positiva (+): pequena área eritematosa | |
| | | 1/100 | | | Ausência de reação local | |
| | | 1/200 | | | Ausência de reação local | |
| Coelho | 573 | Str. 71 | intr. | 0,2 | Reação positiva (+): pequena área eritematosa | Sobreviveu |
| Coelho | 530 | Str. 58 Pura | intr. | 0,2 | Reação positiva (++): eritema e edema de média intensidade | Sobreviveu |
| | | 1/50 | | | Ausência de reação local | |
| | | 1/100 | | | Ausência de reação local | |
| | | 1/200 | | | Ausência de reação local | |
| Coelho | 573 | Str. 58 | intr. | 0,2 | Reação positiva (+): pequena área eritematosa | Sobreviveu |
| Coelho | 515 | Str. 142 Pura | intr. | 0,2 | Reação positiva (+): pequena área eritematosa | Sobreviveu |
| | | 1/50 | | | Ausência de reação local | |
| | | 1/100 | | | Ausência de reação local | |
| | | 1/200 | | | Ausência de reação local | |
| Coelho | 547 | Str. 71 | subc. | 3,0 | Reação positiva (+++): intenso eritema e edema | Escara 72 hs. depois. Sobreviveu |
| Coelho | 574 | Str. 71 | subc. | 3,0 | Reação positiva (+++): intenso eritema e edema | Peq. derrame sanguineo local. S. |
| Coelho | 553 | Str. 58 | subc. | 3,0 | Reação positiva (+++): intenso eritema e edema | Sobreviveu |
| Coelho | 569 | Str. 58 | subc. | 3,0 | Reação positiva (+++): intenso eritema e edema | Peq. derrame sanguineo local. S. |
| Coelho | 554 | Str. 142 | subc. | 3,0 | Reação positiva (+): pequeno eritema e edema | Sobreviveu |
| Coelho | 501 | Str. 71 | v. | 2,0 | † 10 dias depois | Coccidiose |
| Coelho | 546 | Str. 71 | v. | 2,0 | Normal | |
| Coelho | 564 | Str. 58 | v. | 2,0 | Normal | |
| Coelho | 516 | Str. 142 | v. | 2,0 | Normal | |
| Coelho | 503 | Str. 71 | perit. | 5,0 | Normal | |
| Coelho | 533 | Str. 58 | perit. | 5,0 | † 13 dias depois. | S/ alt. anatomo-pat. evidentes |
| Coelho | 518 | Str. 142 | perit. | 5,0 | Normal | |
| Coelho | 502 | Str. 71 | tr. | 0,2 | Normal | |
| Coelho | 532 | Str. 58 | tr. | 0,2 | † 18 dias depois | Pneumonia |
| Coelho | 505 | Str. 58 | tr. | 0,3 | Normal | |
| Coelho | 517 | Str. 142 | tr. | 0,3 | Normal | |
| Cobáio | 504 | Str. 71 | intr. | 0,2 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 534 | Str. 58 | intr. | 0,2 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 519 | Str. 142 | intr. | 0,2 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 548 | Str. 71 | subc. | 2,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 562 | Str. 71 | subc. | 2,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 563 | Str. 71 | subc. | 3,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 537 | Str. 58 | subc. | 2,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cobáio | 559 | Str. 58 | subc. | 2,0 | Reação positiva (++): area eritematosa não muito extensa | Sobreviveu |
| Cobáio | 566 | Str. 58 | subc. | 2,0 | Reação positiva (++): eritema e edema de média intensidade | Sobreviveu |
| Cobáio | 567 | Str. 58 | subc. | 3,0 | Reação positiva (++): eritema e edema de média intensidade | Sobreviveu |
| Cobáio | 555 | Str. 142 | subc. | 2,0 | Reação positiva (+++): intenso edema e eritema. Normal | Escara 72 hs. depois. Sobreviveu |
| Cobáio | 506 | Str. 71 | perit. | 2,0 | Normal | |
| Cobáio | 536 | Str. 58 | perit. | 3,0 | † 17 dias depois | Peritonite |
| Cobáio | 570 | Str. 58 | perit. | 2,0 | Normal | |
| Cobáio | 571 | Str. 58 | perit. | 3,0 | Normal | |
| Cobáio | 521 | Str. 142 | perit. | 3,0 | Normal | |
| Cobáio | 505 | Str. 71 | tr. | 2,0 | Normal | |
| Cobáio | 535 | Str. 58 | tr. | 2,0 | Normal | |
| Cobáio | 520 | Str. 142 | tr. | 0,2 | Normal | |
| Ratos(2 | 511 | Str. 71 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. Normal | |
| Ratos(2 | 551 | Str. 71 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. Normal | |
| Ratos(2 | 542 | Str. 58 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. Normal | |
| Ratos(2 | 528 | Str. 142 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. † R. 1. 30 dias depois | R. 1: inf. intercurrente |
| Ratos(2 | 549 | Str. 71 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Ratos(2 | 560 | Str. 58 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Ratos(2 | 556 | Str. 142 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Ratos(3 | 514 | Str. 71 | perit. | 1,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 514 | Str. 71 | perit. | 2,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 514 | Str. 71 | perit. | 3,0 | Normal | |
| Ratos(3 | 545 | Str. 58 | perit. | 1,0 | Normal | |
| Ratos(3 | 515 | Str. 58 | perit. | 2,0 | Normal | |
| Ratos(3 | 545 | Str. 58 | perit. | 3,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 529 | Str. 142 | perit. | 1,0 | Normal | |
| Ratos(3 | 529 | Str. 142 | perit. | 2,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 529 | Str. 142 | perit. | 3,0 | Normal | |
| Ratos(3 | 512 | Str. 71 | v. | 0,5 | Normal | |
| Ratos(2 | 512 | Str. 71 | v. | 1,0 | † [illegible] | R. 2: inf. intercurrente |
| Ratos(3 | 512 | Str. 71 | [illegible] | 2,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 530 | Str. 71 | [illegible] | 2,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 513 | Str. 58 | v. | 2,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 527 | Str. 142 | [illegible] | 1,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 527 | Str. 142 | [illegible] | 2,0 | Normal | |
| Ratos(2 | 513 | Str. 71 | cc. | 0,05 | † [illegible] | R. 1: inf. interc. R. 2 normal |
| Ratos(2 | 552 | Str. 71 | cc. | 0,05 | Normal | |
| Ratos(2 | 544 | Str. 58 | cc. | 0,1 | Normal | |
| Ratos(3 | 526 | Str. 142 | cc. | 0,1 | Normal | |
| Cam (16 | 507 | Str. 71 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cam (16 | 538 | Str. 58 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cam (16 | 522 | Str. 142 | intr. | 0,1 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cam (16 | 553 | Str. 71 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cam (16 | 561 | Str. 58 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. † 1 camundongo 12 dias depois | Cam. 1 inf. interc. Rest. N. |
| Cam (16 | 557 | Str. 142 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. Normal | |
| Cam (16 | 510 | Str. 71 | perit. | 0,5 | Normal | |
| Cam (16 | 519 | Str. 71 | perit. | 1,0 | Normal | |
| Cam (16 | 541 | Str. 58 | perit. | 0,5 | Normal | |
| Cam (16 | 541 | Str. 58 | perit. | 1,0 | Normal | |
| Cam (16 | 525 | Str. 142 | perit. | 0,5 | Normal | |
| Cam (16 | 525 | Str. 142 | perit. | 1,0 | Normal | |
| Cam (16 | 508 | Str. 71 | v. | 0,5 | Normal | |
| Cam (15 | 539 | Str. 58 | v. | 0,5 | † 1 camundongo 21 dias depois | Cam. 1 não necrop. Rest. normais |
| Cam (16 | 523 | Str. 142 | v. | 0,5 | Normal | |
| Cam (16 | 509 | Str. 71 | cc. | 0,05 | Normal | |
| Cam (16 | 540 | Str. 58 | cc. | 0,05 | Normal | |
| Cam (16 | 524 | Str. 142 | cc. | 0,05 | Normal | |
| Co. (3 | 572 | Str. 58 | subc. | 1,0 | Ausência de reação local. Normal | |

Pela via subcutânea as toxinas 58 e 142 provocaram a formação do edema e eritema; num cobáio (N.º 555). que teve reação fortemente positiva, houve a formação de escara 72 horas depois.

Um cobáio inoculado pela via peritoneal apresentou peritonite na necrópsia; dois outros animais, inoculados pela mesma via e com a mesma toxina, comportaram-se normalmente durante todo o período de observação.

Nada observamos com a inoculação das toxinas pela via transocular.

d) Ratos e camondongos:

Os murídeos foram insensiveis às inoculações das toxinas, não apresentando quaisquer sintomas anormais, cutâneos ou gerais.

### D) AÇÃO FIBRINOLÍTICA (Quadro XXII)

#### 1. Estreptococos e plasmas utilizados

a) Estreptococos:

Para as provas de digestão da fibrina humana, trabalhamos com 16 amostras isoladas de penfigosos, cuja origem é a seguinte:

6 isoladas por hemocultura;
4 " de eflorescências epidérmicas;
4 " em necrópsias.

A título de controle, realizamos as mesmas pesquisas em estreptococos hemolíticos isolados de doentes de Dermatite Herpetiforme de Duhring, de úlceras na perna e de sarcoma do braço com metástases. Também procedemos a prova nu'amostra de enterococo.

b) Plasmas:

Além do plasma de indivíduo normal achamos interessante usar plasmas de doentes de Pênfigo Tropical, em vários estádios clínicos da dermatose:

I — fase de invasão bolhosa;
II — dermatose crônica generalizada;
III — caso benigno não generalizado, com recrudescência bolhosa;
IV — dermatose em regressão;
V — forma frusta.

#### 2. Técnica utilizada (39)

a) Cultura de 24 horas em caldo-soro. Centrifugar.

b) Plasma. Receber 10 cm³ de sangue humano em um tubo contendo o pó obtido por evaporação de 0,5 cm³ de uma solução a 4% de oxalato de potassio. Centrifugar.

---

Acompanhou-nos nas provas de toxicidade o dr. Celso Brandão, a quem somos gratos.

QUADRO XXII

REAÇÃO DA FIBRINÓLISE

| No. estreptococo | PROCEDÊNCIA | Plasma 579 Invasão bolhosa Obs. 443 | Pl. 577 — Dermatose crônica generalizada. Obs. 508 | Pl. 576 — Caso benigno. Recrudescência bolhosa. Obs. 457 | Plasma 618 Forma frusta Obs. 577 | Plasma 581 Dermatose em regressão. Obs. 583. | Plasma Humano Normal | TESTEMUNHO somente a mistura, sem germes. | OBSERVAÇÕES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 58 | Hemocultura ...... | CP | CP | L | L | L | L | CT | Patogênico para animais de laboratório. |
| 71 | Hemocultura ...... | CP | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 131 | Hemocultura ...... | L | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 142 | Hemocultura ...... | CP | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 330 | Hemocultura ...... | CT | CT | CT | L | L | L | CT | Idem |
| 153 | Liq. bolhas .. .... | CP | CP | L | L | L | L | CT | Idem |
| 276 | Liq. bolhas ....... | CT | CT | L | L | L | L | CT | Idem |
| 320 | Crostas ....... | L | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 332 | Liq. bolhas ....... | L | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 247 | Necrópsia | L | CT | L | L | L | L | CT | Idem |
| 248 | Necrópsia ....... | L | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 291 | Necrópsia ....... | CT | CP | CP | CP | L | L | CT | Idem |
| 292 | Necrópsia ......... | CP | CP | L | L | L | L | CT | Idem |
| 293 | Necrópsia ......... | CP | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 317 | Necrópsia ......... | L | L | L | L | L | L | CT | Idem |
| 288 | Hemocultura ...... | CT | CT | CT | CP | CP | CP | CT | Não patogênico para animais de laborat. |
| 200 | Liq. bolhas Dermatite Duhring . | CP | CP | L | — | L | L | CT | Patogênico para animais de laboratório. |
| 27 | Hemocultura Dermatite Duhring . | CT | CT | CT | — | CT | CP | CT | *Strept. viridans* |
| 404 | Necrópsia Sarcoma do braço .. | CT | CT | CT | — | CT | CP | CT | Patogênico para animais de laboratório. |
| 698 | Pus Úlcera da perna ... | CT | CT | CT | CT | CT | CT | CT | |
| 463 | *Strept. faecalis* ... | CT | CT | CT | CT | CT | CT | CT | |

c) Solução de cloreto de cálcio a 0.25%.

d) Misturar:

| | |
|---|---|
| Sobrenadante da cultura ........................ | 0,5 cm³ |
| Plasma oxalatado .............................. | 0,2 cm³ |
| Salina fisiológica .............................. | 0,8 cm³ |
| Solução de cloreto de cálcio a 0,25% ............. | 0,25% |

e) Incubar em banho-maria a 37°. Leituras após ½, 1, 3 e 24 horas.

### 3. Resultados

São altamente interessantes os resultados da reação de fibrinólise no plasma de penfigosos, em comparação com o plasma normal.

Como se verifica no Quadro XXII, usamos em nossas experiências 15 estreptococos hemolíticos e virulentos isolados de Pênfigo Foliaceo. Estabelecendo percentagens, levando em consideração somente essas amostras patogênicas, teremos os seguintes resultados:

| | Invasão bolhosa | Dermatose generalizada | Caso benigno | Forma frusta | Dermatose em regressão | Plasma normal |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Coagulação . . . | 60% | 46,6% | 13,3% | 6,6% | 0% | 0% |
| Liquefação . . . | 40% | 53,4% | 86,7% | 93,4% | 100% | 100% |

A interpretação imunológica dêsses achados será discutida por nós mais adiante, mas os seguintes fatos devem ser imediatamente realçados:

I — os estreptococos *beta*-hemolíticos virulentos, isolados de material patológico de Pênfigo Tropical, são fibrinolíticos;

II — a maior percentagem de coagulação foi no doente em que a dermatose se estabelecera recentemente;

III — no portador de dermatose crónica generalizada o impedimento da fibrinólise foi inferior ao caso de invasão bolhosa, ainda que bem elevada;

IV — no caso benigno (em recrudescência bolhosa) e na forma frusta aqui estudados, a percentagem de coagulação sofreu uma queda, com tendência a aproximar-se do plasma normal;

V — a fibrinólise no plasma do caso com dermatóse em regressão, em vias de cura clinica, não foi inibida, sendo o resultado idêntico ao plasma normal.

O estreptococo 288, avirulento para animais de laboratório, não digeriu a fibrina humana, confirmando o conceito de Tillet & Garner (36), que consideram a reação da fibrinólise como diferenciadora dos estreptococos patogênicos dos não patogênicos.

Entretanto, o estreptococo 404, classificado sorologicamente no grupo A, é patogênico para ratos e camondongos e não realizou a fibrinólise em plasma humano, mostrando que o carater diferencial estabelecido por Tillet & Garner não é absoluto.

A amostra 200, hemolitica, altamente patogênica para animais de laboratório e sorologicamente pertencente ao grupo A de Lancefield, não liquefez os plasmas de penfigosos em invasão bolhosa e com a dermatose generalizada; liquefez os plasmas dos casos benigno e com a dermatose em regressão, como também o plasma normal. Êsse estreptococo foi isolado de líquido de bolhas de um menino afetado com Dermatite Herpetiforme de Duhring (fig. 15).

O estreptococo 27, do grupo *alfa*, isolado de hemocultura de doente de Dermatite de Duhring (Fig. 22), não é fibrinolítico, apesar de ser patogênico para camondongos.

Os dois outros estreptococos de controle (69B, isolado de úlcera da perna e o 46B, enterococo), não realizaram a fibrinólise nos diversos plasmas estudados.

## CAPITULO X

## DISCUSSÃO DAS PESQUISAS REALIZADAS. OUTROS ASPECTOS CLÍNICO-EXPERIMENTAIS RELACIONADOS COM O PROBLEMA.

### OS ESTREPTOCOCOS EM DERMATOLOGIA

Em 1883, dois anos depois da descoberta do estreptococo por Pasteur, Chamberlain & Roux, foi isolado em cultura pura por Fehleisen o agente etiológico da erisipela, sendo esta a primeira estreptodermia descrita.

Sabouraud (42), no início deste século, demonstrou pela primeira vez o papel dos estreptococos nas dermatoses vulgares e descreveu uma série de moléstias nas quais essas bactérias eram responsabilizadas como agentes microbianos. Por estreptodermias, naquela ocasião, foram classificadas as seguintes dermatoses: impetigo vulgar, ectima, elefantíase *nostra*, intertrigo ordinário, impetigo sêco da face e as afecções daí por diante chamadas como estreptodermites crônicas. Tal opinião foi baseada na presença do estreptococo em eflorescências cutâneas e confirmada por uma série de observações clínicas. A escola francesa, posteriormente, ampliou as observações de Sabouraud e admitiu que o estreptococo se desenvolve na pele com extraordinária frequência, podendo determinar uma multiplicidade de tipos mórbidos cutâneos. Segundo Gougerot (43) e Milian (44), as seguintes dermatoses podem ser classificadas com estrepcococ-

-cias: erisipela; linfangites reticulares e tronculares; elefantíase *nostra* dos membros inferiores, do lábio superior, etc., quando o derma e o hipoderma são atingidos; impetigo contagioso de Tilbury Fox e todas as suas formas; impetigo sêco da face ou o gorduroso, associado à seborréia do couro cabeludo; impetigo-ectima bolhoso dos membros inferiores; impetigo ulceroso (rúpia); estomatite impetiginosa nos cantos da boca (*perleche*); sifilóide pápulo-erosivo perianal de Jacquet; queratite flictenar; paraqueratoses secas (pitiríase róseo, etc.) e gordurosas (pseudo-tinha amiantácea de Alibert, etc.); prurigo infeccioso; intertrigo retro-auricular e das pregas articulares; disidrose infecciosa aguda; pênfigo epidêmico dos recem-nascidos (moléstia de Ritter); e, toda a *gama* das dermo-epidermites microbianas difusas eritêmato-escamosas, de grande polimorfismo lesional. A demonstração da natureza estreptocócica dessas dermatoses, segundo os autores franceses, se estriba em:

1. Provas bacteriológicas: existência do estreptococo nas lesões de recente formação ou nas zonas de extensão em cultura pura; estimativa do número de germes em comparação com casos de controle.

2. Intradermoreações positivas.

3. Provas experimentais: reprodução das lesões por inoculação voluntária em indivíduos normais.

4. Provas clínicas: evolução e resultados terapêuticos por tratamentos adequados.

As idéias de Sabouraud não foram totalmente aceitas, como também o conceito atual ampliado dos seus discípulos. A erisipela é reconhecida como sendo produzida por um estreptococo *beta*-hemolítico pertencente ao grupo *A*. A etiologia estreptocócica da elefantíase *nostra*, das linfangites, da celulite flegmonosa difusa, do impetigo contagioso e do ectima dos membros inferiores é agora admitida pela maioria dos autores. Os dermatologistas ainda se mostram reservados sôbre as outras estreptodermias, porque os estreptococos podem ser encontrados na pele em estado de saprofitismo, como em afecções cutâneas nas quais a etiologia estreptocócica pode ser excluida.

Já Frederic (45), em 1901, demonstrou a presença de estreptococos numa percentagem de 7.5%, em 160 partes de pele normal; em diversas afecções cutâneas, entre as quais casos de impetigo, encontrou estreptococos em 53.7%.

Flehme (46), em 1920, revelou a presença de 15% de estreptococos em epiderme normal, resultando dêste fato que, a simples presença dos estreptococos em uma lesão externa, não significa causa etiológica.

Percival (47), em 1929, achou que os estreptococos são habitantes do tegumento externo em número escasso e calcula que somente 7,5% como mínimo e 15,0% como máximo dos indivíduos normais albergam êsse germe no revestimento cutâneo.

Entretanto Milian, reclamando a importância dos estreptococos nas dermatoses rotuladas como estreptodermites, diz que há quem recuse o papel etiológico dessas bactérias em tais doenças da pele, porque podem ser encontradas em estado saprofítico no envólucro epidérmico de indivíduos normais. Objeta êste argumento, lembrando as experiências de Photinos (48), realizadas em seu laboratório em 1927. Photinos pesquisou o estreptococo na pele normal de 50 pessoas sem qualquer erupção cutânea. As culturas microbianas foram feitas de material colhido na face, no dorso do nariz, nos sulcos naso-genianos e pregas retro-auriculares. O estafilococo esteve sempre presente em todas as culturas. O estreptococo foi cultivado da raspagem de 32 pessoas, ou seja numa proporção de 64%. Os casos negativos (36%) se referiam a indivíduos que nunca tiveram qualquer lesão estreptocócica nem outros antecedentes dermatológicos. Nos casos positivos, a anamnese mostrou passado de pitiríase da face e do couro cabeludo, furunculose, acne e foliculite, dermatoses a estreptococos ou de associação estáfilo-estreptocócica frequente. Com estas pesquisas Photinos, que foi discípulo de Sabouraud, pretendeu demonstrar que das pessoas que não tiveram lesões estreptocócicas ou como tal consideradas, as epidermoculturas eram negativas para êsse germe.

Haxthausen (49), também em 1927, estudando o problema e usando um meio com cristal violeta, a-fim-de aproveitar a ação bacteriostática dessa substância sôbre os estafilococos e facilitar o crescimento dos estreptococos nos meios de cultura, reviu a questão e chegou a resultados bastante interessantes. Fez 600 culturas de pele de indivíduos normais e com afecções cutâneas diversas. Em 92 casos normais encontrou estreptococos numa percentagem de 7,6%. O material para exame foi colhido do tronco, braço, couro cabeludo, pregas inguinais, axilas e coxas. Os resultados confirmaram a presença acidental dos estreptococos sôbre a pele normal, ainda que êles sendo mais raros do que os estafilococos. Em doenças cutâneas de origem não estreptocócica, demonstrou a presença dos estreptococos em 15% dos casos; não levou em consideração aqueles complicados com impetigo ou outras dermatoses, cuja origem estreptocócica é reconhecida. Nas lesões úmidas os resultados positivos foram em maior percentagem. Nas dermatoses cuja origem estreptocócica foi reconhecida por Sabouraud as suas verificações podem ser resumidas como segue:

1) Impetigo e ectima: a origem estreptocócica foi confirmada. De 68 casos 60 foram positivos; os negativos já tinham sido tratados com antissépticos.

2) Pênfigo epidêmico dos recem-nascidos: as pesquisas revelaram a origem estafilocócica.

3) Intertrigos: O intertrigo retro-auricular é de origem estreptocócica; quanto às outras formas clínicas acredita que são infecções secundárias, porque na maior parte demonstrou a presença de cogumelos.

4) Pitiríase simples, eczema seborreico e eczematides: apresentam resultados difíceis de julgar. No pitiríase sêco do rosto, demonstrou a presença do estreptococo em 40 dos 54 casos estudados, permitindo concluir por sua origem estreptocócica. Na afecção chamada de dermatose médio-torácica e no pitiríase circinado do corpo, teve resultados negativos, sobretudo em lesões secas. Nas eczematides e eczemas, a presença do estreptococo é inconstante e supõe que êsse germe não constitue a etiologia direta dessas afecções.

Considerando a importância atribuida à escama, como elemento infectante na escarlatina, Salassa (50), em 1940, estudou a distribuição topográfica dos germes na pele de indivíduos escarlatinosos durante as diversas fases da doença e na convalescença. Excluiu, dêste estudo, os anaeróbios obrigatórios e votou especial atenção para os estreptococos hemoliticos. Salassa verificou que a pele das pessoas atingidas de escarlatina é muito rica em germes, especialmente na face, mãos e pés. Independente da fase clínica da moléstia e da região cutânea, conseguiu isolar estreptococos hemolíticos em 38% dos casos examinados. Os estreptococos foram isolados nos períodos inicial, exantemoso e descamativo da doença. Após êsse último período é difícil isolar estreptococos hemolíticos e depois de 15-17 dias da moléstia um resultado positivo deve ser considerado excepcional. Salassa estudou 50 casos de escarlatina e os exames bacteriológicos foram executados com material obtido da fronte, região anterior do tórax, quadrante inferior do abdomen, região dorsal do pé, face anterior do braço e região dorsal da mão.

A nossa impressão é que êste amplo papel atribuido aos estreptococos na Dermatologia deveria ser revisto por um prisma mais imuno-bacteriológico, não se descuidando, entretanto, dos fatores individuais e gerais que propiciam a implantação dêsses micróbios no revestimento cutâneo dos infectados.

Nos trabalhos que referimos linhas acima, com exceção do de Salassa, que foi orientado para a pesquisa do estreptococo da escarlatina, quasi nenhuma alusão encontramos sôbre a classificação e sorologia dos estreptococos. Houve uma nítida tendência em assinalar a sua presença, sem referir às suas propriedades intrínsecas e patogenicidade. Nem mesmo é referida a elementar pesquisa de hemólise que constitue, hodiernamente, apenas o passo inicial para a classificação bioquímica e sorológica dêste grupo de bactérias, de grande importância na patologia.

Abstraindo os trabalhos brasileiros, apenas os seguintes autores fazem referência sôbre a capacidade hemolisante dos estreptococos isolados de casos de Pênfigo: McEvem (13), Artom (15), Ciani (19), Manca (20) e Grace (21), isolaram estreptococos hemolíticos; Welsh (22) diz que as amostras de estreptococos que isolou produziram uma larga e intensa zona esverdeada nos meios sólidos com sangue.

A classificação adotada para distinguir os estreptococos pela produção de hemólise é a de Brown (39), que distinguiu 4 tipos:

1. O tipo *alfa* ou *viridans* que produz descoloração esverdeada em agar-sangue em placas, com hemólise parcial ao redor das colônias. Uma zona clara exterior pode-se desenvolver guardando a cultura na geladeira.

2. O tipo *beta* ou *hemolítico* que, pela produção da hemotoxina, produz uma zona de clareamento ao redor das colônias, rigorosamente definida. Ao microscópio não se vêm eritrócitos intactos. Não há aumento da zona de hemólise pela conservação da placa na geladeira.

3. O tipo *alfa-primo*, intermediário entre os dois primeiros, que produz uma zona hemolítica turva, moderada, na qual podem ser encontrados microscopicamente glóbulos vermelhos intactos.

4. O tipo *gama* ou *inerte* que não produz nem coloração verde, nem halo de hemólise.

Lancefield (31), observou que os estreptococos hemolíticos podiam ser divididos em grupos sorológicos, graças aos seus componentes antigênicos. Conseguiu isolar uma fração protêica ácido-soluvel a qual denominou *proteina M* e um *carbohidrato C*, grupo-especifico, que permite separar os estreptococos hemoliticos em vários grupos. Outras duas substâncias foram ainda bem caracterizadas: a *nucleoproteina P* e o *carbohidrato S*.

Lancefield distinguiu inicialmente 5 grupos, por meio de reações de precipitação:

1. O *grupo A* que é composto pelas amostras virulentas de origem humana, classificadas como *Streptococcus pyogenes*.

2. O *grupo B* que inclue o estreptococo da mastite bovina, o *Streptococcus agalactiae*.

3. O *grupo C* que é constituido por amostras hemolíticas humanas e animais cujo comportamento biológico é idêntico, de um modo geral, ao *Strept. pyogenes*; a espécie melhor estudada é o *Strept. equi*.

4. O *grupo D* do qual fazem parte amostras isoladas do intestino humano e do queijo.

5. O *grupo E* que é formado por algumas amostras isoladas do leite.

Os achados de Lancefield estimularam pesquisas por essa correta via de estudos e os grupos *F*, *G*, *H* e foram acrescentados aos 5 grupos iniciais.

Hare, Pauli & Corbun (51), pela precipitação da substância M com soros tipo-específicos, dividiram o grupo A de Lancefield em 28 sub-grupos.

Griffith (52), pelo método da aglutinação em lâminas, com soros absorvidos, classificou os estreptococos hemolíticos de origem humana em 30 tipos, dos quais 26 foram incluidos no grupo A e os restantes nos grupos C e G.

E' interessante anotar que, segundo as verificações de Todd (53), apenas os três grupos de estreptococos hemolíticos que comumente infectam o homem (grupo A, C e G), produzem a estreptolisina O. Já a estreptolisina S é produzida sómente pelos diferentes tipos de estreptococos hemolíticos do grupo A. A estreptolisina S do grupo A é grupo-especifica.

Recentemente, depois dos trabalhos de Sherman (54), foram adotados métodos para a classificação biológica dos estreptococos que têm sido usados para diferenciar as bactérias em geral. Algumas dessas provas merecem ser mencionadas: temperatura ótima, temperatura máxima com sobrevida, crescimento em meio de cultura com pH a 9.0, crescimento em presença de solução de NaCl a 6.5%, crescimento em agar-sangue biliado, atividade fibrinolítica e outras menos importantes.

Gay (55) relata que as variedades de estreptococos primariamente patogênicas para o homem e animais, são aquelas que se classificam como hemolíticas. Evidentemente, existe uma relação entre a potencialidade hemotóxica e patogenicidade, ainda que não se tenha explicado êste mecanismo. Mas, de qualquer maneira, está mais ou menos demonstrado que, quando a virulência falta ou é quasi nula, a hemotoxina está ausente. A virulência e a capacidade de invasão dos estreptococos hemolíticos, dependem, além de outros fatores, da produção da leucocidina, da estreptolisina, da fibrinolisina e de uma substância denominada *fator de difusão de Duran-Reynolds* (*spreading factor*).

Platon, Dwan & Hoyt (56) afirmam que nas estreptococias "the clinical picture is determined by a number of factors, such as the portal of entry, the tissue infected and, most important of all, by the properties of the organism which characterize it as virulent and invasive, together the toxic substances secreted and the immunologic reactions of the host to these biological circumstance".

Lembremos aqui as belas palavras de Bordet (57): "L'étude de l'infection et celle l'immunité sont inseparables. La virulence du microbe est son immunité vis-a-vis de l'organisme; l'immunité de l'organisme est sa virulence pour le microbe. On doit soumettre à une analyse approfondre les proprietés d'attaque des microbes dont l'ensemble constitue la virulence, et les capacités defensives de l'organisme, dont l'association donne immunité, sans perdre de vue que le microbe qui attaque doit aussi se defendre".

Os estreptococos do grupo *alfa* ou viridescentes não formam toxinas soluveis, nem hemolisina e são avirulentos ou de baixa virulência para animais de laboratório; são tidos como agentes mais comuns da endocardite sub-aguda bacteriana e das infecções focais. Não conhecemos referência alguma sôbre sua existência nas lesões das dermatoses rotuladas como estreptodermias.

Os estreptococos anhemolíticos ou do grupo *gama* geralmente são considerados como destituidos de patogenicidade e de nula significação na produção de

doenças cutâneas ou gerais: são, quasi sempre, avirulentos para animais de laboratório. Como os do grupo *alfa*, êles são capazes de produzir, em menor escala, endocardite sub-aguda, infecções das vias urinárias ou ser causa de infecções focais. Germes dêsse grupo têm sido encontrados no intertrigo, porém, seu papel como agente de tal dermatose tem sido posto em dúvida.

Segundo Topley & Wilson (58) a grande maioria dos cocos encontrados no revestimento cutâneo não são patogênicos para homens e coelhos; os patogênicos encontrados em maior número, são os estafilococos da variedade *aureus*.

Kolmer & Tuft (41) dizem que a maioria dos estreptococos encontrados na cavidade bucal são do grupo *gama* (inertes) e *alfa* (viridescentes). Somente 7% dos indivíduos normais possuem estreptococos hemolíticos potencialmente virulentos na mucosa pituitária e naso-faringe, sendo o número dêsses micróbios bem mais elevado durante as infecções das vias respiratórias superiores. Apenas em 4% de pessoas hígidas foram encontrados estreptococos hemolíticos do grupo A na epiderme; os estreptococos anhemolíticos foram isolados com maior frequência; possivelmente a contaminação da pele pode ser originária das vias respiratórias. As pesquisas de Salassa na escarlatina, onde os estreptococos hemolíticos existem de 80 a 100% no naso-faringe, durante a fase aguda da moléstia, vêm de encontro a essa suposição de Kolmer & Tuft; as partes expostas, sem a proteção das vestes, são as regiões mais ricas em germes, sobretudo de estreptococos hemolíticos; no periodo de convalescença, em que há tendência ao desaparecimento dos estreptococos, êles excepcionalmente são encontrados no tegumento externo.

Como se vê, a concepção atual é de que os estreptococos hemolíticos raramente habitam a epiderme normal. Além do mais, o revestimento cutâneo-mucoso constitue a primeira linha de defesa que se opõe inespecificamente à penetração dos micróbios e parece possuir um complexo mecanismo de auto-desinfecção, que é responsavel pelo rápido desenvolvimento dos germes vivos côbre êle. As experiências de Colebrook (59) a êste respeito são muito interessantes: êste autor verificou que quando se depõem estreptococos hemolíticos sôbre a epiderme, dentro de poucos minutos diminue o seu número: 30.000.000 de estreptococos que seguiram à deposição nos 3 minutos iniciais, há uma redução na primeira hora para 1.722.000 e ao fim de 2 horas para 7.000. Idênticas observações foram efetuadas com o *Proteus vulgaris*, pneumobacilo de Friedländer e colibacilo. Arnold & colaboradores (82) verificaram, em numerosas experiências, que culturas vivas de *Escherichia coli*, *Ebertella typhosa* e *Salmonella enteriditis* não são recuperadas depois de 10 minutos de contacto com a pele da face palmar da mão. Com o *Staphylococcus aureus*, nessa série de experiências, houve uma redução inicial de 82% em 10 minutos, porém o germe é ainda isolado depois de muitas horas, o que explica a frequência dos estafilococos no revestimento cutâneo e principalmente nas fendas epidérmicas.

## OS ESTREPTOCOCOS DO PÊNFIGO FOLIACEO. A TOXINA ERITEMATOGÊNICA. REAÇÃO DA FIBRINÓLISE

Os estreptococos hemolíticos do Pênfigo Tropical foram identificados ao *Streptococcus pyogenes* ROSENBACH, espécie tipo do gênero *Streptococcus*.

Da espécie *Strept. pyogenes* fazem parte as amostras hemolíticas pertencentes ao grupo sorológico A, isoladas em infecções humanas de vários tipos, produzindo ocasionalmente infecções em animais e raramente encontradas no leite.

Bier (39) observa que todo estreptococo hemolítico, quer seja isolado do pús de um abcesso, de uma angina lacunar ou de uma angina escarlatinosa, deverá ser rotulado como *Streptococcus pyogenes*, pois não existem caracteres morfológicos, bioquimicos ou sorológicos suficientes para diferenciar o estreptococo da escarlatina ou da erisipela, etc.

Gay (55), discorrendo sôbre a ubiquidade dos estreptococos e sôbre a variedade das moléstias a êles atribuidas, diz que é preciso reconhecer que um determinado microorganismo pode produzir muitas doenças e também que muitos germes podem produzir uma lesão mais ou menos idêntica.

Nos trabalhos norte-americanos não encontramos uniformidade nos caracteres ecológicos e bioquimicos dos estreptococos isolados de dermatoses filiadas ao grupo do Pênfigo.

O "bacilo de Eberson" (9)-*Bacterium pemphigi* — mais tarde incluido entre os estreptococos, tem como principais caracteres: Germe extremamente pequeno nas primeiras gerações, ovóide, cocóide e pleomórfico. Tende a formar grupamentos compactos. Acidifica a glicose e a glicerina e não tem ação sôbre a lactose, maltose, sacarose, manita, rafinose e inulina. Anaeróbio. Patogênico para cobáios e coelhos. Avirulento para macacos.

Os estreptococos isolados por Welsh (22) são anaeróbios estritos no primeiro isolamento. As colônias produzem orla esverdeada em agar-sangue (*viridans*). Fermentam a dextrose, maltose, manita, sacarose, levulose, galactose e salicina; não fermentam a rafinose, inulina, arabinose, xilose, dulcita e inosita. Virulentos para coelhos, cobáios, ratos e camondongos, especialmente para os últimos; as lesões cutâneas observadas nos animais de laboratório se aproximam das do Pênfigo.

McEven (13) faz a descrição de estreptococos hemolíticos originários de doente de Pênfigo cujo comportamento nos hidratos de carbono é o seguinte: acidificação positiva para dextrose, levulose, galactose, maltose, sacarose, dextrina e salicina; negativa para lactose e manita.

Grace (21) isolou do líquido de bolhas e do sangue cardiaco de necrópsia, de um caso de Pênfigo Vulgar e de outro de Pênfigo Vegetante, 6 amostras de

estreptococos hemolíticos, identificando-as pelo esquema de Holman (60). Obteve os seguintes resultados: 2 amostras foram classificadas no grupo *subacidus* (lactose + manita —, salicina —) ; 3 produziram fermentações do grupo *pyogenes* (lactose + manita — salina +) ; e, a última, no grupo *infrequens* (lactose + manita + salicina +).

O mesmo não aconteceu conosco na identificação dos estreptococos originários de penfigosos.

As 39 amostras *beta*-hemolíticas que estudamos foram duma uniformidade quasi que absoluta, afóra raras exceções, já assinaladas por nós, na fermentação dos açúcares e patogenicidade para animais de laboratório.

Rantz (61), recentemente, aplicou a classificação bio-sorológica em 392 estreptococos hemolíticos e anhemolíticos de origem humana. Dos 32 estreptococos isolados em necrópsias apenas um foi classificado no grupo A, a maior parte (12 amostras) no grupo D (enterococos) e os restantes nos grupos B, C, F eG ou não grupados. Nas nossas pesquisas todos os estreptococos que classificamos sorologicamente eram do grupo A. Talvez êsse achado sirva para fortalecer a suposição, que adiante fazemos, de serem os estreptococos isolados das necrópsias de Pênfigo procedentes, possivelmente, em sua maioria, da epiderme.

A toxina eritomatogênica de Dick & Dick (35), possue, entre outras, três principais características:

a) Grande estabilidade, não se transformando espontaneamente em toxóide, como as toxinas diftérica e tetânica;

b) Relativa termo-resistência, resistindo a 95° durante 45 minutos;

c) Especificidade ao homem, produzindo um eritema localizado quando injetada em pequena quantidade; maiores quantidades em indivíduos particularmente sensíveis, podem produzir um eritema generalizado, com febre e mau estar.

Os animais geralmente não são muito sensíveis à toxina eritrogênica. Segundo a maioria dos autores, em coelhos, ela pode produzir um eritema por via intra-dérmica ou sub-cutânea, mas não tão nítido e duradouro quanto no homem; a sua dose letal sendo muito volumosa (5 a 10 $cm^3$, via intravenosa).

Rosenow (62) indica porcos e carneiros como animais adequados para a dosagem da toxina eritematogênica; aparentemente só apresentaram sensibilidade cerca de 10 vezes menor do que o homem, podendo-se, portanto, aplicar a toxina em diluições de 1:10 até 1:100.

Teichmann (63) não observou reações cutâneas em outros animais, além do cavalo e porco, pela injeção intra-cutânea de filtrados de estreptococos hemolíticos isolados de escarlatina.

Em nossas experiências os coelhos reagiram por via intradérmica (até a diluição de 1/50) e por via sub-cutânea, observando-se ainda derrames sanguíneos e formação de escara no ponto de inoculação.

Nos cobáios obtivemos formação de edema e eritema por inoculação sub--cutânea.

Por outras vias, a toxina eritematogênica foi sem ação nesses dois animais.

Ratos e camondongos foram insensiveis às inoculações praticadas por diversas vias.

Demonstramos também que a toxina poude provocar, em alta diluição, uma reação eritematosa em pessoa sensivel.

Em 25 doentes de "Fogo Selvagem", com várias formas clínicas da moléstia, experimentamos as toxinas 58 e 71 (ambas dosando 50.000 S.T.D.) e filtrados de outros estreptococos hemolíticos provenientes de penfigosos. Nesse grupo não havia nenhum doente com a forma frusta. As inoculações foram feitas até a diluição de 1:1.000 por via intradérmica. Não observamos qualquer sintoma anormal, cutâneo ou geral.

A hipótese mais plausivel da falta de reação é supor-se que a existência de antitoxinas circulantes neutralizaram a toxina. Sabe-se, além do mais, que a anti-eritema-toxina neutraliza especificamente a toxina eritematogênica *"in vivo"* e *"in vitro"*.

De qualquer maneira, os nossos achados parecem estabelecer os seguintes fatos:

1.º — Os estreptococos originários do Pênfigo Tropical secretam uma toxina eritematogênica.

2.º — Diluições dessa toxina injetada em penfigosos não provocaram eritema local, pressupondo a existência de uma antitoxina neutralizante na circulação.

3.º — Como um estreptococo hemolítico do grupo A é isolado com facilidade das lesões cutâneas de Pênfigo Foliáceo e pode passar para a corrente sanguínea ou acarretar outras complicações, sugerimos que seria útil tentar:

a) Demonstrar a toxina eritematogênica e sua antitoxina no organismo dos penfigosos.

b) Realizar provas intra-dérmicas, nos moldes da reação de Dick, nas zonas focos e particularmente nas pessoas que vivem em contacto com os portadores de Pênfigo, visto a existência de aparentes "epidemias familiares"; os indivíduos sensíveis seriam imunizados com a própria toxina, graduada em unidades cutâneas (S.T.D.).

c) Transformar a toxina eritematogênica em toxóide e tentar uma imunização ativa dos doentes. Poderá ser associada ou não a

vacinas mortas por aquecimento mitigado, feitas com culturas jovens de germes de recente isolamento ou virulentos, segundo a técnica recomendada por Loewenthal (64).

d) Tentar uma imunização passiva nos doentes de Pênfigo, usando um soro misto e homólogo, anti-tóxico e anti-bacteriano. Seria também interessante provar a administração simultânea de soro e sulfanilamidas.

O soro anti-estreptocócico deve possuir em alto grau opsoninas tipo-específicas para germes virulentos. Segundo Platon, Dwan & Hoyt (56) o anti-soro ideal para o tratamento de infecções de estreptococos do grupo A, tanto na escarlatina quanto em outras entidades clinicas, deve possuir:

1.º — abundância de anticorpos grupo-especificos e tipo-especificos;

2.º — riqueza em anticorpos de todos os produtos secretados pelos estreptoccos (toxinas soluveis, substâncias agressivas, enzimas);

3.º — homologia.

Dizem os citados autores que a neutralização da toxina eritematogênica, produzida em quantidades variáveis por qualquer dos 30 tipos hemolíticos da classificação de *Griffith*, é muito desejavel. Entretanto, outros produtos tóxicos dos estreptococos, tais como a leucocidina, a estreptolisina, a fibrinolisina, os "spreading and invasive factors", não têm recebido consideração adequada dos sorologistas. Os soros antitóxicos estreptocócicos têm a propriedade de neutralizar a toxina eritrogênica, mas carecem de qualquer propriedade anti-bacteriana e anti-invasiva. A aplicação de soros heterólogos de cavalo causam reações que podem predispor a uma invasão bacteriana violenta.

A capacidade de digerir a fibrina humana *"in vitro"* é um carater próprio da maioria dos estreptococos hemoliticos, particularmente dos pertencentes ao grupo A. Todas as amostras hemoliticas e virulentas procedentes de material colhido em penfigosos produziram a liquefação do plasma humano normal. Porém, em presença de plasma de doentes de Pênfigo Foliáceo, nem todas tiveram tal comportamento: na fase de invasão bolhosa e nos casos de dermatose crônica generalizada a inibição da fibrinólise foi em maior percentagem (60% e 46,6%, respectivamente); no caso benigno a percentagem de impedimento foi de 13,3% e na forma frusta de 6,6%; no plasma do doente em vias de cura a inibição foi nula, sendo a reação idêntica à do plasma normal.

Êsses fatos fazem acreditar na existência, no plasma dos portadores do "Fogo Selvagem", desde os primórdios da moléstia, da *anti-fibrinolisina*, anti-corpo cuja presença já foi verificada em outras infecções produzidas pelos estreptococos hemolíticos, como a escarlatina, erisipela, angina lacunar aguda, etc.

Como não se conhece exatamente o papel da fibrinolisina na patogenia das infecções por estreptococos hemolíticos, é lógico que também se desconheça a função da anti-fibrinolisina. Sabe-se, todavia, que a fibrinólise é inibida pela adição de anti-soro estreptocócico.

Não padece da menor dúvida que tais achados demonstram que no Pênfigo Tropical existem anticorpos estreptocócicos na corrente sanguínea, e a presença da anti-fibrinolisína, num caso inicial, constitue precioso argumento em favor da nossa hipótese, adiante defendida, de haver uma *toxemia precoce* nessa dermatose.

Em outra parte dêste capítulo discutiremos as diferenças bacteriológicas existentes entre as formas clínicas generalizadas e a forma frusta, benigna e localizada. Acreditamos que a presença quasi nula da anti-fibrinolisina na forma frusta possa ser outro carater adicional para o descrime.

A nossa apreciação sôbre a fibrinolisina e a anti-fibrinolisina ainda deve ser encarada com a necessária reserva. Estudamos aqui a prova fibrinólise em relação aos estreptococos. Em outro trabalho pretendemos estudá-la mais intensamente, utilizando, porém, grande número de plasmas de penfigosos.

## A ESTREPTOCOCCIA CUTANEA NO PENFIGO FOLIACEO E NA DERMATITE HERPETIFORME DE DUHRING

Das pesquisas retro-referidas ficou cabalmente demonstrada a existência no Pênfigo Foliáceo, desde os primórdios da doença, de uma extensa e intensa infecção estreptocócica cutânea. Parece que a infecção é epidérmica, provavelmente não atingindo o derma e o hipoderma.

A presença de estreptococos durante a fase de invasão bolhosa, nos elementos crostosos ou no liquido de bolhas purulentas, foi de 100%. Não se pode, todavia, afirmar que a sua presença esteja ligada diretamente à formação da bolha — que é a lesão patognomônica do Pênfigo — visto que todos os exames bacteriológicos de bolhas recentes e contendo liquido citrino foram negativos para estreptococos.

Na fase aguda, dos 16 casos que examinamos, com exceção de um único, todos os estreptococos isolados pertenciam ao grupo *beta*-hemolitico. Nesse caso de exceção, do qual isolamos estreptococos inertes, o Pênfigo foi de grande benignidade, regredindo rapidamente. Nos outros doentes a dermatose evoluiu classicamente, afetando mais tarde todo o tegumento cutâneo, com tendência à cronicidade.

Nas formas generalizadas crônicas o estreptococo hemolitico constitue o elemento bacteriano predominante nas lesões externas. A sua presença é de 33.33% no liquido de bolhas recentes e limpidas e de 100% nas bolhas purulentas e lesões erostosas. A presença de estreptococos hemolíticos, em cultura pura no líquido de bolhas límpidas ou purulentas, parece demonstrar, segundo nossas observações, ser grave o caso clinico, com tendência do estreptococo passar à corrente sanguinea. Do Quadro II, com exceção apenas de dois, todos os doentes apresentados faleceram; em dois casos, entre os 5 relatados, a hemocultura foi positiva para estreptococos do grupo *beta*.

Possivelmente, os resultados mais interessantes no estudo da infecção cutânea, foram os que conseguimos na chamada forma frusta, cujo aspecto clinico-morfológico se aproxima do síndromo de Senear & Uscher, segundo Vieira (65), Rabello Junior (66) e Artom (29). Na flora bacteriana das lesões tegumentares residiria uma das diferenças essenciais entre a forma frusta e as outras ou tipos clinicos do "Fogo Selvagem", que nem mesmo a histologia conseguiu diferenciar. A maioria dos casos por nós examinados, não mostrou a presença de estreptococos hemoliticos. A presença dêsses germes significaria a possibilidade de um pênfigo frusto, localizado e benigno, se transformar rapidamente em pênfigo generalizado e grave, sob o influxo de uma causa que no momento nos é ainda despercebida, possivelmente uma diminuição da resistência geral, com queda das defesas imunitárias cutâneas e humorais. Nada pudemos deduzir, após minuciosa anamnese e exame clínico cuidadoso dos doentes nos quais observamos êstes fatos. Resulta, pois, que todos os casos frustos devem ser sistematicamente submetidos a exames bacteriológicos das lesões cutâneas, a-fim-de defender o doente de uma possivel generalização da dermatose, submetendo-se a cuidados higieno-dietético-medicamentosos, de modo a conservar sempre o estado geral e as defesas imunitárias antibacterianas em boas condições. A ausência de estreptococos hemoliticos nas formas frustas, parece-nos um dos caracteres mais importantes, tanto para o descrime com as outras formas clínicas do Pênfigo Foliaceo, quanto para o prognóstico da evolução de um determinado caso clínico.

Acreditamos ser de toda oportunidade referir os achados de Aragão (67, 68 e 69) relativamente ao carater diferencial entre o alastrim ou varíola mansa e a varíola, através da flora bacteriana secundária existente nas pústulas. Segundo Aragão um dos feitios mais caracteristicos do alastrim é a ausência da febre secundária, que julga ser devido que as pústulas nesta moléstia não são invadidas senão muito raramente pelos estreptococos, ao contrário da varíola em que essas bactérias podem ser consideradas como micróbios satélites. No alastrim as pústulas são geralmente infectadas pelos estafilococos *albus* e *aureus*. A raridade dos estreptococos no pús das pústulas do alastrim se explica, talvez, pela benignidade das lesões e pelo não enfraquecimento das defesas do organismo. Ao

contrário disso, na varíola, as lesões mais profundas e outras condições ainda pouco conhecidas, estabelecem um meio muito favoravel para o seu desenvolvimento. Daí o fato dos estreptococos serem considerados germes simbióticos na varíola, os quais mais tarde, graças à sua enorme proliferação e virulência adquiridas, se tornam responsáveis por uma série de acidentes secundários, invadindo o resto do organismo, gerando septicemias etc.. A diferenciação estabelecida por Aragão entre o alastrim e a varíola, muito se aproxima do descrime bacteriológico, que aquí analisamos, entre a forma frusta do Pênfigo Tropical, benigna e localizada, geralmente sem febre e acidentes secundários e as formas generalizadas agudas ou crônicas, onde a febre de supuração e as complicações devidas aos estreptococos constituem regra, com predominância nítida da infecção estreptococócica na fisionomia clínica cutânea e geral.

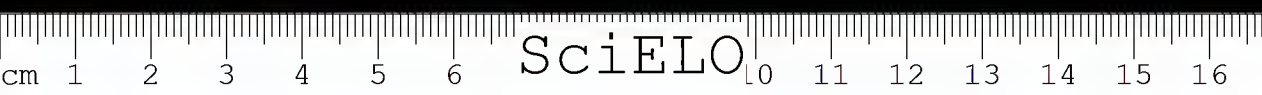
Com o síndromo de Senear & Uscher, pelo que pudemos verificar, não houve ainda a preocupação de distingui-lo das outras formas clínicas do Pênfigo por simples exames bacteriológicos das eflorescências epidérmicas. A única referência que encontramos sôbre o diagnóstico diferencial do síndromo de Senear & Uscher, por processo bacteriológico de laboratório, foi num comentário de Welsch (22) que, examinando dois sôros de doentes atingidos por essa modalidade de Pênfigo, pelo método da motilidade cataforética dos estreptococos, obteve resultados negativos com antígeno de Pênfigo e fortemente positivos com o de estreptococos isolados de casos de lupus eritematoso.

Nos casos de regressão e curas observadas no Pênfigo Tropical, a impressão que se pode tirar das epidermoculturas é bastante interessante. As involuções clínicas parecem estar ligadas à presença ou ausência dos estreptococos hemolíticos. Os seguintes achados reforçam esta opinião:

1) Nos dois únicos casos considerados clinicamente curados que examinamos não conseguimos isolar estreptococos hemolíticos.

2) Dos 8 convalescentes examinados, em 5 dos quais isolamos estreptococos hemolíticos, ainda possuiam *reliquats* do Pênfigo e de quando em vez apresentavam surtos bolhosos de pequena intensidade, limitados a pequenas áreas do tegumento externo; não se pode garantir nestes casos que se trate de uma regressão definitiva da dermatose. Temos o exemplo de uma doente (A. L. V., obs 463, Figs. 5 e 6, analisada nas formas generalizadas crônicas), que tivera uma regressão temporária das lesões cutâneas.

3) No caso cuja regressão se deu mais rapidamente, não foram obtidos estreptococos hemolíticos das lesões regressivas da face (M. L., obs. 583, analisada nos casos em regressão).

4) Em um caso de regressão cujo estudo fizemos na fase de invasão bolhosa (J. T. V., obs. 436, Figs. 1 e 2), isolamos estreptococos do grupo inerte;

a involução rápida dêsse caso poderia ser atribuida à ausência de estreptococos hemolíticos.

Sem dúvida, a elevada percentagem de estreptococos hemolíticos, presentes nas lesões tegumentares dos penfigosos, desde os primeiros meses de moléstia, faz pensar que se trate de uma raça especial desses micro-organismos, com *epidermotropismo* natural ou adquirido. Darier (70), estribado na sua reconhecida capacidade de observação, admitiu que o terreno individual representaria relevante papel na evolução das piocóccias externas. Acreditou mesmo que a exaltação por passagens sucessivas, talvez pudesse explicar as auto-inoculações, a contagiosidade, a persistência de algumas lesões epidérmicas e a constante pululação microbiana no foco patológico inicial.

A escarlatina é hoje encarada e aceita pela maioria dos autores como uma infecção devida a um estreptococo hemolítico do grupo A, e as provas para tal concepção consistiram numa série de observações feitas no próprio homem, ao lado de uma série de provas imunológicas. Desde de 1921 (Kolmer & Tuft), que se reconhece que os estreptococos possuem uma relação etiológica com a doença, principalmente porque as complicações secundárias, como adenite cervical, abcessos peritonsilares, otites médias, sinusites supurativas e artrites, foram provadas ser de origem estreptocócica.

Não tencionamos nem temos elementos para atribuir ao estreptococo a responsabilidade etiológica do Pênfigo Foliáceo. Todavia, durante todo o decorrer da nossa exposição, demonstramos amplamente a importância dessa bactéria na evolução da moléstia, provocando acidentes e complicações, às vezes fatais para os doentes. Do lado cutâneo, as complicações secundárias devidas a ela são bastante comuns, como erisipelas, linfangites, enfartamentos ganglionares, abcessos, etc.. As Figs. 26, 27 e 28 são bastante elucidativas a tal respeito. A Fig. 28 é de um aspecto frequente nos doentes de "Fogo Selvagem", simulando uma pseudo-tinha amiantácea de Alibert, doença do couro cabeludo que é tida pela escola francesa como de origem estreptocócica.

Segundo Simonds, Taylor & Arnoff (71), os estreptococos hemolíticos são menos frequentes nos paises tropicais, fato que consideram de importância para explicar a ausência ou raridade de algumas doenças nessas zonas. A incidência de reações negativas pelo teste de Dick nos paises tropicais é mais alta onde a escarlatina é relativamente rara. Os autores acima citados estão de certo modo com a razão. Não resta a menor dúvida que em nosso País doenças produzidas por estreptococos, como a escarlatina e o reumatismo estreptocócico, são de incidência menor que nos paises de clima frio e temperado. Mas, como explicar a prevalência dos estreptococos hemolíticos no quadro nosológico do Pênfigo Tropical?

Relativamente ao diagnóstico diferencial do Pênfigo Foliáceo com a Dermatite de Duhring, Artigas & Mourão exararam a sua opinião em trabalho publicado em 1939 (73), dizendo naquela ocasião que somente a evolução clínica *a posteriori*, aliada à prova terapêutica com determinados medicamentos, que dão resultados na doença de Duhring e permanecem sem ação no "Fogo Selvagem", como é o caso do arsênico, permitiria fazer a diferenciação entre essas dermatoses. Pouco progresso fizemos até a presente data e quasi nada podemos adicionar ao ponto de vista daqueles autores.

Pelo exame bacteriológico das lesões cutâneas a presença de estreptococos hemoliticos no Pênfigo Foliáceo é de 80%. Dos 5 casos de Dermatite de Duhring que examinamos, em dois isolamos estreptococos *beta*-hemoliticos do líquido de bolhas. Parece que a gravidade da dermatose pode estar relacionada com a flora microbiana externa. Assim é que, no caso de S. G. P. (Figs. 16, 17, 18),

Fig. 16

Hipertrofia da orelha de uma mulher com Pênfigo, doente há 11 anos. Sabouraud (72), em 1937, devido a êste aspecto clinico, expressou a seguinte opinião a respeito da etiologia do Pênfigo Tropical: "Je crois à son origine parasitaire et l'elephantiasis des oreilles me ferait chercher du côté du streptocoque".

cuja evolução foi rápida e benigna, não isolamos estreptococos, sendo isolados *Staph. aureus* do liquido de bolhas purulentas. Com bastante detalhe estudamos um caso grave de Dermatite de Duhring (J. A., Figs. 22, 23) hoje clinicamente

FIG. 27
Elefantiase e lesões papilomatosas na perna esquerda de uma mulher com Pênfigo, doente há 7 anos.

curado. Nesses casos isolamos estreptococos *alfa*-hemolíticos do sangue e estreptococos *beta*-hemolíticos de lesões bolhosas. De outro caso do qual isolamos

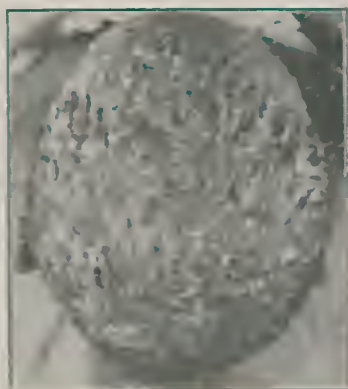



FIG. 28
Carapaça crostosa, aspecto muito frequente, simulando tinha pseudo-amiantácea de Albert, em doente de Pênfigo Foliaceo, na fase de invasão bolbosa, sofrendo da moléstia há 4 mêses.

estreptococos hemoliticos no liquido de bolhas limpidas e purulentas (M. C., Fig. 15), na ocasião do exame apresentava um estado geral bom e não nos foi possivel acompanhar a evolução clinica da dermatose.

Do ponto de vista dermatológico é licito acrescentar outro sinal básico para a perfeita diagnose do Pênfigo Tropical com a Moléstia de Duhring: no "Fogo

Selvagem" há predileção no início da dermatose para a parte médio-torácica (regiões para-esternal e inter-escapular) e para a face (região malar, em forma de vespertílio), tanto nas formas bolhosas como nas frustas. Nos casos de Dermatite Herpetiforme tal não se dá, não tendo a localização inicial predileção para qualquer região. Chamamos, particularmente, a atenção para as fotografias do doente S. G. P. (Figs. 16, 17, 18), cuja evolução e localização da dermatose, vêm de encontro ao nosso modo de pensar.

Os conceitos aqui emitidos sôbre a Dermatite Herpetiforme de Duhring ainda devem ser encarados com certa reserva, visto que o número de doentes que tivemos em nosso serviço é mínimo para estudos de tal natureza, dada a raridade da afecção em nosso País.

## HEMOCULTURAS POSITIVAS

As hemoculturas praticadas sistematicamente nos doentes de Pênfigo, na data de sua matrícula no Serviço do Pênfigo Foliáceo ou entrada no hospital (Instituto "Adhemar de Barros"), revelou-nos que em 12,5% elas foram positivas para estreptococos, e em 3,3% para estafilococos. A letalidade foi alta para as primeiras (737%) e baixa para as últimas (20%).

Os estreptococos hemolíticos aliam as suas atividades de bactérias tipicamente hemolíticas com aquelas de germes de grande capacidade de invasão, sendo por isso muito frequentes nos processos septicêmicos. As amostras altamente virulentas são as de invasores mais rápidos e vigorosos de tecidos, não só atuando por progressão como tambem por intoxicação focal e geral. A toxina eritematogênica do estreptococo difere das outras exotoxinas pela sua resistência ao calor, especificidade ao homem e dependência de sua ação por uma prévia sensibilização individual. Está perfeitamente demonstrado que a toxina escarlatinica existe desde os primeiros dias de doença na urina e no sangue, sendo rapidamente neutralizada pela injeção de antitoxina.

Dada a extrema frequência dos estreptococos hemoliticos nas eflorescências cutâneas dos penfigosos, desde o perindo inicial da moléstia, é justo que uma dúvida possa surgir: no Pênfigo Tropical existe uma septicemia ou uma bacteriemia?

Como muito bem acentua Coutinho (74), não há um sindromo característico das septicemias, por isso que elas estão ligadas a uma etiologia múltipla, mas, embora possam ser profundamente diversas as manifestações locais ou viscerais, há uma fenomenologia única nas manifestações gerais; qualquer que seja o germe responsavel, os sintomas das septicemias oferecem no seu conjunto, salvo um ou outro detalhe, um certo grau de uniformidade, variando apenas quanto à intensidade, conforme o germe e sua virulência e ao poder defensivo dos tecidos.. Entre os sintomas mais importante está a febre, que também pode va-

riar sob os mais diferentes tipos, não tendo nenhum aspecto peculiar. A febre, progressivamente elevada, é variável, polimorfa ou mais ou menos irregular ou contínua, sub-contínua, remitente ou intermitente; em casos de septicemia de marcha sub-aguda pode haver hipotermia por falência das defesas orgânicas.

Exatamente o que nos chamou a atenção e nos levou a praticar sistematicamente hemoculturas, foi o quadro térmico apresentado por muitos dos penfigosos durante a evolução da moléstia: em determinados períodos, sem causa aparentemente explicavel, há uma elevação térmica proteiforme, dos mais variados tipos, de duração efémera ou, em menor proporção, de carater permanente, sendo êstes os casos de desfecho rápido; o acme pode atingir até 40°5. Os gráficos 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 são muito elucidativos. Acreditamos mesmo, e pretendemos voltar a êste assunto em próximo trabalho, que a percentagem de hemoculturas positivas seria muito maior se fossem praticadas nos períodos térmicos ascencionais, em qualquer dos tipos clínicos generalizados.

Os doentes de Pênfigo que faleceram com hemoculturas positivas para estreptococos, como se vê no Quadro IX, e que na ocasião do exame tiveram seu estado geral classificado como *mau* ou *precário*, apresentavam um quadro clínico de profunda toxi-infecção, entremeado de fases enganadoras de acalmia. O exame hemocitológico confirmou tal suposição, sendo encontradas as seguintes alterações: 1) anemia intensa do tipo hipocrômico; 2) leucócitos nos limites normais e frequentemente leucopenia; 3) neutrocitose com desvio degenerativo para a esquerda, com presença de granulações tóxicas de Naegeli-Gloor e vacuolizações no citoplasma e alterações degenerativas nucleares; 4) nos casos mais graves os eosinófilos eram ausentes ou bem diminuidos; 5) linfopenia e, em menor número de casos, linfocitose. Possivelmente, em quasi todos os doentes dêsse grupo, houve uma septicemia do tipo sub-agudo, pois que, em numerosos, pudemos fazer a verificação de controle, tendo as hemoculturas confirmado a existência, de uma estreptocemia. Indiscutivelmente nas septicemias qualquer que seja a sua origem, a hemocultura é o meio decisivo para o diagnóstico, quando confirmada.

Os únicos casos com estado geral *mau* ou *precário* e hemoculturas positivas para estreptococos que sobreviveram, foram os doentes: R. E. (obs. 238, estrep. 58) e A. M. (obs. 153, estrep. 486). Entretanto, em ambos a evolução clínica foi de uma verdadeira *septicemia*.

Provavelmente tiveram *bacteriemia*:

1) G. S. (obs. 301, estrept. 22) que, 1 ano depois da hemocultura positiva e 48 horas antes da morte, foi submetida à nova cultura do sangue com resultado negativo; no dia seguinte do óbito efetuou-se uma punção cardiaca e as semeaduras revelaram o crescimento de estreptococos hemolíticos, estafilococos dourados e bacilos esporulados (Quadros IX, XV e XVI).

2) N. D. (obs. 492, estrept. 14), doente de forma distrófica, teve hemocultura positiva para estreptococos; um ano depois faleceu e a punção cardiaca praticada 8 hrs. após a morte, deu resultado negativo (Quadros IX e XV).

Dos doentes que sobreviveram, cujo quadro de temperatura, aliada ao exame clinico e evolução posterior da moléstia nos autoriza a dizer que tiveram *simples bacteriemia* são os seguintes: M. B. (obs. 482, estrept. 298), V. C. T. (obs. 9, estrept. 297) e J. M. (obs. 11 e estrept. 205).

Relativamente ao caso de forma fruma (E. V., obs. 403, estrept. inerte 90), não acompanhamos a sua evolução clínico-bacteriológica e devido a êste fato abstemo-nos de dar opinião.

A inexistência de hemoculturas positivas durante a fase de invasão bolhosa e a observação de que mais de 2/3 dos doentes que estudamos serem acometidos de Pênfigo há 2 anos ou menos, permitem-nos fazer algumas suposições do maior interesse:

1) Enquanto houver zonas estensas de pele sã os estreptococos e estafilococos não passam para a corrente sanguínea.

2) Durante a fase de invasão bolhosa, que pode durar de 1 a 9 meses, a resistência individual dos doentes é ainda um grande fator contra a invasão sanguinea dos piococos.

3) Logo depois da generalização da dermatose, sendo o organismo do indivíduo atacado de Pênfigo Foliáceo, privado parcial ou totalmente das funções de um dos mais importantes orgãos de proteção e excreção, como é o envólucro cutâneo, há uma queda da resistência, possibilitando não só a invasão dos piococos, gerando bacteriemias ou septicemias, como a absorção de toxinas.

4) Talvez o motivo principal da maioria dos doentes de Pênfigo não sobreviverem, depois de dois anos de moléstia, seja exatamente condicionado pela *suposição* 3. E' notória a profunda transformação porque passam os doentes quando a dermatose se generaliza: imediatamente se estabelece uma impressionante queda do estado de nutrição; na maior parte dos casos há a impossibilidade da movimentação, não podendo os doentes caminharem; as lesões cutâneas na transição da fase eritêmato-bolhosa-exsudativa para a fase eritrodérmica-esfoliativa são intensamente dolorosas, incômodas e purulentas; há exaltação da dermalgia; sobreveem as alopécias, as quedas das unhas e dos dentes, os edemas das extremidades, as disfunções das glándulas endocrínicas e toda a gama de complicações secundárias. Êsse é o periodo de maior sofrimento dos penfigosos.

5) Acreditamos que a *toxemia* deva ser precoce, desde os primeiros meses de doença e desde que existam nas eflorescências cutâneas piococos toxígenos. Mas, estabelecida a invasão da dermatose a toda a epiderme, é possivel que daí por diante se estabeleça uma *toxemia* permanente e a sua intensidade sendo pro-

porcional ao teor antitoxico do organismo; essa intoxicação tanto pode ser causada pelos estreptococos hemolíticos como pelos estafilococos toxígenos. Como em algumas estreptococcias se tem demonstrado a presença precoce da toxina estreptocócica, é justo que também se formule esta hipótese no Pênfigo Tropical, em que as zonas atingidas pela dermatose são muito mais extensas em comparação, por exemplo, com a angina escarlatínica.

Aschcar (75), estudando a imunidade anti-estafilocócica, analisou o título antitóxico de 5 casos de Pênfigo Foliáceo, encontrando uma média de 6,45 U. A., portanto, notavelmente elevada. Em indivíduos normais a média maior alcançou o título de 1,88 U. A., num grupo de pessoas cuja idade variava de 11 a 17 anos.

6) Parece estar em jogo uma ou mais causas tóxicas, atuando sôbre as glândulas endocrínicas nos casos de Pênfigo. As toxinas secretadas pelos germes patogênicos existentes no tegumento externo podem estar entre êsses fatores causas. E' possivel que a toxemia, hipótese ainda passivel da maior reserva, concorra para as disfunções e atrofias das glândulas de secreção interna, observadas posteriormente à eclosão do "Fogo Selvagem". Guimarães & Mourão (76), em estudos clínicos-experimentais, encontraram num grupo de 37 doentes um único indivíduo normospérnico, portador de forma frusta, com a dermatose localizada no tórax anterior e posterior; nos outros casos, em que a dermatose era generalizada os doentes eram impotentes, oligospérmicos ou azoospérmicos. Com o desaparecimento ou regressão das lesões cutâneas há um retorno da função sexual e da espermogênese. O caso curado que aquí estudamos (A. A., pág. 175) teve o exame de esperma normal. Ainda no trabalho de Guimarães & Mourão, as fotografias dos casos com regressão e cura clínica mostram-nos a volta dos caracteres sexuais secundários, a-pesar-de um certo grau de hipogonadismo. Nas mulheres fatos dessa ordem são mais evidentes e dois dêles merecem ser mencionados: Guimarães (77), em 60 doentes de Pênfigo, encontrou fluxo mestrual normal em apenas uma doente; em todas as outras encontrou hipomenorréia ou ausência de fluxo mestrual e em 4 casos menopausa; a atrofia mamária foi observada em 81% das pacientes. Possuimos na nossa casuística observações de casos que depois de curados clinicamente tiveram gestação normal e conseguiram amamentar os seus filhos. Mourão & Guimarães (78), em outro trabalho, entre os caracteres diagnósticos do Pênfigo Foliaceo infantil, citaram êstes:

a) quando um indivíduo é atingido de Pênfigo antes da puberdade, há sempre retardo do crescimento e na maioria das vezes uma parada, devido a uma disfunção da hipófise anterior (formas distróficas);

b) o Pênfigo na infância é acompanhado de hipopituitarismo e hipogonadismo.

Se há cura clinica do Pênfigo antes da puberdade, pode haver nomalização das funções da hipófise anterior, desenvolvendo-se o individuo normalmente, como temos observado mais de uma vez. O caso curado clinicamente que já citamos (A. A., pág. 175) é um exemplo.

7) Confirmando a *suposição* 6, da existência de uma ou mais causas tóxicas secundárias nos casos crônicos, Alayon (78), em relatório preliminar, ainda inédito, diz textualmente: "O que mais nos impressionou no exame macroscópico dos órgãos internos dos cadáveres de Pênfigo, na sua forma clinica, foi sem dúvida, o acentuado grau de atrofia que apresentam. A par da atrofia muscular generalizada, da escassez de paniculo adiposo, das alterações articulares, já notadas clinicamente, nos doentes de Pênfigo, cuja moléstia data de muito tempo, pudemos observar constantemente acentuada atrofia do miocárdio, suprarrenal, tireóide, orgãos genitais do homem e da mulher. O quadro anatômico em geral é o da microsplanquiúria, sendo a nosso ver a atrofia orgânica de natureza provavelmente secundária, uma vez que não a pudemos observar num caso, em que as primeiras manifestações do "Fogo Selvagem" eram de achado relativamente recente".

8) Provavelmente, além da *toxemia*, pode-se suspeitar como causa tóxica concomitante, a presença de uma *sapremia*, por absorção de produtos de decomposição epidérmica e produzida pelas bacterias da infecção externa. Aventamos aqui a suposição de poder ser atribuida a essas duas causas, entre outras, a temperatura sub-febril vesperal que se observa nos doentes de Pênfigo, desde a fase inicial, e que perdura durante toda a evolução da moléstia.

No "Fogo Selvagem", além dos estreptococos produzirem septicemia e bacteriemia, mostramos a possibilidade dêles condicionarem um estado continuo de toxemia, conjuntamente com os estafilicocos. Os achados anátomo-patológicos revelaram em numerosos casos, a existência de processos inflamatórios (*sepsis cronica*), como: hiperplasia e tumefacção das células reticulares do figado (células de Kupfer); tumefação do baço e correspondente hiperplasia da polpa vermelha; hiperemia e atividade hematopoiética intensa da medula óssea. Êstes achados anatomo-patológicos podem ser atribuidos tanto a infecção cutânea, toxemia e septicemia, quanto às infecções intercorrentes, entre as quais a broncopneumonia e a tuberculose pulmonar.

Compulsando os relatórios anátomo-patológicos, não nos foi possivel encontrar os processos que caracterizam as piemias (lesões metastáticas, focos de ne-

---

Consignamos aquí os mais sinceros agradecimentos ao nosso distinto colega Dr. Fernando L. Alayon por facilitar a nossa tarefa colocando ao inteiro dispor toda a sua documentação e observações ainda inéditas. Devemos frizar que Alayon nos esclareceu que as suas opiniões aquí exaradas constituem uma impressão não definitiva, pois que julga por enquanto insuficiente o número de necrópsias que realizou de casos de Pênfigo Foliaceo. Alguns dos seus resultados já foram dados à publicidade (65).

crose). Coutinho (74), no capítulo das septicemias do seu bem documentado livro, professa que, às vezes, a septicemia, só por si, sem determinar metátases viscerais, processos inflamatórios ou supurativos, conduz à morte por ação tóxica. E' a septicemia pura. E' o caso das septicemias agudas por estreptococos virulentos. Outras septicemias podem produzir, em vez de processos supurativos, simples fenômenos inflamatórios nas vísceras: são as septicemias com processos inflamatórios não supurados.

Muito interessante é a relação que existe entre hemoculturas positivas para estreptococos e a tuberculose no Pênfigo. Em 29 necrópsias de casos de Pênfigo, Alayon encontrou 7 com lesões de tuberculose ou seja uma percentagem de 24,1%. Nos 7 casos atingidos de tuberculose foram feitas hemocultura em vida. Em 4 doentes a hemocultura foi positiva para estreptococos e apresentavam um quadro clínico típico dos processos sipticêmicos: os doentes C. M. M. (obs. 422, estrept. 71) e A. J. F. S. (obs. 439, estrept. 30) de evolução agudas: e E. P. (obs. 264, estrept 142) e C. F. L. (obs. 293, estrept. 305 do tipo subagudo).

A tuberculose é alimentada por consideráveis fatores que se conjugam para propiciá-la. Nas formas exsudativas de tuberculose não se pode dizer anatomicamente se o processo tuberculoso se instalou recentemente ou foi reativado por causas intercorrentes com diminuição da resistência. Êste conceito se aplica perfeitamente nos casos de Pênfigo: teria a tuberculose se instalado antes ou depois da moléstia penfigosa? A septicemia estreptocócica seria uma causa de diminuição da resistência para o ataque do bacilo de Koch ou então a tuberculose fez com que os estreptococos ganhassem a corrente sanguínea?

## A INVASÃO CADAVÉRICA POR ESTREPTOCOCOS HEMOLÍTICOS

Dos trabalhos por nós citados sôbre a presença de estreptococos em casos de Pênfigo, apenas dois A.A. fizeram referência sôbre o seu isolamento em necrópsias. Mc Even (13), na necrópsia de um caso de Pênfigo Cronico, isolou estreptococos hemolíticos de pús de abcesso do pescoço, no baço e do líquido céfalo-raquidiano, associados a bacilos Gram positivos e a estafilococos dourados: os estreptococos possuiam os mesmos caracteres bioquímicos daqueles isolados do líquido de bolhas e por hemocultura: Grace (21), num caso de Pênfigo Vulgar e noutro de Pênfigo Vegetante, isolou em ambos, por punção cardíaca, estreptococos hemolíticos.

Nos exames bacteriológicos que praticamos em material necrótico, provenientes de 24 casos de Pênfigo Tropical, tivemos a elevada percentagem de 95,7% de estreptococos hemolíticos. As necrópsias, em sua maioria, foram praticadas 24 horas ou mais depois do óbito e a essa demora poder-se-ia atribuir a elevada percentagem de positividades (Quadro XIV). Procuramos sanar essa

causa de erro, praticando punções cardíacas logo após a morte dos doentes. A hora da colheita do material foi propositalmente variada, a-fim-de poder acompanhar com mais minúcia o tempo da invasão bacteriana.

As punções cardíacas "post mortem" tiveram uma positividade de 66,6% (Quadro XV). Duas punções cardíacas feitas, respectivamente, 10 e 15 minutos depois do óbito (G. S., punção 566, obs. 301 e M. O., punção 619, obs. 288), foram negativas para estreptococos. Entretanto, uma punção cardíaca praticada 20 minutos após a morte, nu doente que 34 horas antes teve hemocultura negativa, foi positiva para estreptococos (P. R. L., punção 653, hemocultura 650, obs. 473). Noutro caso a necrópsia foi efetuada 5 horas depois do óbito revelando a presença de estreptococos no material proveniente de baço; a punção cardíaca foi feita nesse mesmo cadaver duas horas e 10 minutos depois do falecimento foi negativa (O. A. S., necrópsia 553, punção 551, obs. 374).

Efetuamos também hemoculturas "ante mortem" que demonstraram não se processar a invasão bacteriana no período pré-agônico, revelando os exames praticados nessas condições mais ou menos a percentagem de positividade das hemoculturas feitas nos doentes em diversas fases clínicas da dermatose (Quadro XVI).

Parece-nos, em vista de tais resultados, que se pode pensar numa invasão bacteriana que se processaria ou na fase pré-agônica, nos últimos momentos que antecederam a morte, ou, então, nas primeiras horas depois da morte. Para aqueles que se interessarem por detalhes, nos "dados cuja importância releva assinalar", nos capítulos referentes às verificações necróticas, punções cardíacas "post mortem" e hemoculturas "ante mortem", historiamos os principais fatos, donde tiramos êsses resultados.

Para controle dessas verificações cadavéricas realizamos exames bacteriológicos em material necrótico de casos cujo óbito foi motivado por outras moléstias, sendo todo o trabalho procedido nas mesmas condições técnicas (Quadro XVII). Somente em dois casos, com a percentagem de 16,6%, isolamos estreptococos hemolíticos, sendo que um dêles era de *tuberculose pulmonar bi-lateral* e o outro de *sarcoma do braço com metástases generalizadas*, dos quais transcrevemos na íntegra os relatórios anátomo-patológicos que nos foram enviados. Com êsses controles ficou nitidamente demonstrado que é possível isolar estreptococos hemolíticos do grupo A após a morte, em moléstias nas quais êsses germes não podem ser responsabilizados como os agentes etiológicos, podendo, pois, a sua presença ser interpretada como uma invasão bacteriana, originária de um foco pré-existente.

No período final do Pênfigo Foliáceo a presença de estreptococos no sangue guarda a mesma porcentagem da verificada em períodos bem anteriores á morte. Sendo, pois, esta percentagem relativamente pequena, não se pode atribuir a uma septicemia ou bacteriemia estreptocócica a sintomatologia clínica pré-mortal na

maioria dos casos. Acreditamos, entretanto, que a toxemia, devida às toxinas solúveis dos piococos, concorra para o agravamento dêste profundo estado de intoxicação, sendo, possivelmente, um dos principais elementos em jogo.

Dos relatórios anátomo-patológicos das necrópsias de Pênfigo verifica-se a frequência dos processos inflamatórios localizados no aparelho respiratório. Assim, em 29 necrópsias, pudemos fazer a seguinte estatística:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Bronquites e bronquiolites purulentas com focos de broncopneumonia | 11 casos | ou | 37,9% |
| Tuberculose pulmonar | 7 " | " | 24,1% |
| Pneumonia lobar | 2 " | " | 6,8% |
| Necrose quasi total do parênquima pulmonar com pleurite soro-fibrinosa | 1 " | " | 3,4% |
| Soma dos casos | 21 " | " | 72,2% |

Portanto, não se levando em consideração os casos de *tuberculose pulmonar*, vê-se que 50,8% dos cadaveres apresentavam *processos inflamatórios bronco-pulmonares*.

Chama-nos a atenção, particularmente, a disparidade entre o número de casos de bronco-pneumonia em comparação com os de pneumonia lobar.

A bacteriologia das bronco-pneumonias secundárias difere muito das pneumonias lobares primárias. Os estreptococos hemolíticos que desempenham um papel secundário pneumonias lobares primárias, nas quais o pneumococo é o agente predominante senão o etiológico, frequentemente produzem bronco-pneumonias secundárias, desencadeando um tipo fatal de infecção. Evidentemente que o pneumococo, o bacilo de Pfeiffer e os estafilococos não devem ser desprezados, cabendo tomá-los em valimento como germes infectantes secundários.

Os achados de Dwinell (80), que estudou a flora pulmonar de 69 casos de pneumonias gripais secundárias, mostram a predominância dos estreptococos hemolíticos:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Estreptococos hemolíticos | 41 casos | ou | 59,4% |
| Pneumococos (todos os tipos) | 8 " | " | 11,6% |
| Estreptococos não hemolíticos | 17 " | " | 24,6% |
| Estafilococos | 13 " | " | 18,9% |
| *Hemophilus influenzae* | 34 " | " | 49,3% |

Na pneumonia lobar humana é considerado como agente etiológico o pneumococo, ainda que outras bacterias possam ser cultivadas em casos de verdadeira pneumonia lobar. Cecil, Baldwin & Larsen (80) fizeram estudos bacteriológicos em 2.000 casos de pneumonia lobar, encontrando as seguintes bactérias:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Pneumococo (todos os tipos) | 1913 casos | ou | 95,65% |
| Estreptococos hemolíticos | 76 " | " | 3,80% |
| Pneumobacilo de Friedländer | 8 " | " | 0,40% |
| Estafilococos da variedade *aureus* | 2 " | " | 0,10% |
| *Hemophilus influenzae* | 1 " | " | 0,05% |

Não fizemos pesquisas bacteriológicas da flora pulmonar cadavérica, para verificar o papel desempenhado pelos estreptococos hemoliticos, o que, entretanto, faz parte de nossas futuras cogitações. Podemos adiantar, baseados em nossa experiência pessoal, que se isola de casos de Pênfigo, com relativa facilidade, estreptococos hemolíticos da naso-faringe. Em necrópsia de um caso (A. Y. F., obs. 477, nec. 368), com pneumonia lobar, com hepatização do lobo inferior do pulmão direito e do lobo superior do pulmão esquerdo, isolamos *Diplococcus pneumoniae*, *Staphylococcus albus*, *Bacillus* sp. e *Escherichia coli*. Os pneumococos eram dotados de alta virulência para murideos.

Possivelmente, entre outras causas, pode-se atribuir a hipertermia pré-mortal dos penfigosos aos processos inflamatórios broncopulmonares. Nos casos de tuberculose pulmonar, em que foi tomada a temperatura até o desenlace, havia elevação térmica, seguindo o tipo febril observado na maioria dos casos.

Da série de pesquisas bacteriológicas necróticas realizadas por nós, evidencia-se pois, mais uma vez, a grande importância que desempenham os estreptococos hemoliticos na patogenia do Pênfigo Foliaceo, dada a sua grande frequência e a sua absoluta predominância em todas as culturas bacterianas de material colhido nas necrópsias e por punções cardiacas *post-mortem*.

Provavelmente, o ponto de partida para a invasão cadavérica é a epiderme, inválida nos doentes de Pênfigo, onde os estreptococos hemoliticos existem em elevada percentagem. Sabe-se, além do mais, que a barreira cutânea perde sua capacidade de auto-desinfecção 15 minutos após a morte, segundo as experiências de Arnold & colaboradores (82).

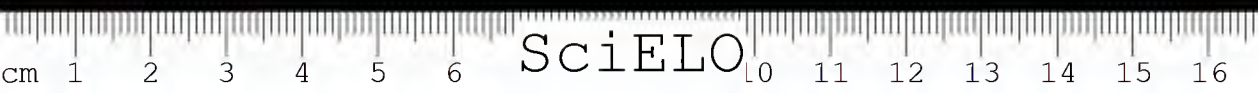
Corrobora para essa suposição o fato da maioria das hemoculturas praticadas no periodo pré-agônico serem negativas. Constituem exceção a esta regra, com toda a probabilidade, os casos em que as hemoculturas em série foram positivas para estreptococos hemolíticos, apresentando os doentes um quadro de verdadeira septicemia, mesmo no período pré-agônico, sendo tais bactérias recuperadas de diversos órgãos nas necrópsias.

## CAPITULO XI

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Cabe-nos agora, à luz das pesquisas efetuadas, definir a posição dos estreptococos na etiologia do Pênfigo Foliaceo.

Não possuimos elementos para afirmar que os estreptococos possam ser a causa primária do "Fogo Selvagem". Os argumentos que podem infirmar a sua origem estreptocócica, a nosso ver e baseados no presente trabalho, são os abaixo enumerados:

1.º — O estreptococo é um germe encontrado frequentemente em processos supurativos.

2.º — No líquido de bolhas límpidas (lesão patognomônica), de recente formação e não rompidas, de casos iniciais, não foram isolados estreptococos: ao contrário, nas crostas e bolhas purulentas dêsses casos, sempre se isolaram tais microorganismos.

3.º — Em outras dermatoses, bolhosas ou não, foram encontrados nas lesões epidérmicas estreptococos hemolíticos e virulentos, sendo duas amostras grupadas no grupo A.

4.º — Em cadáveres cujo óbito fora devido a doenças não estreptocócicas, também foi verificada a invasão de estreptococos hemolíticos do grupo A nos órgãos internos.

5.º — A atividade fibronolitica de um estreptococo, do tipo *beta*, do grupo A, isolado de um caso de Dermatite de Duhring, foi inibida por plasmas de penfigosos nas fases inicial e crônica da dermatose.

À presença dos estreptococos hemolíticos nas lesões de Pênfigo Foliaceo, poder-se-ia aplicar a interpretação dada por Aragão (67, 68, 69) para as bactérias de supuração na variola, que considerou os estreptococos como germes simbióticos que podem gerar septicemias e outros acidentes secundários, devidos à sua capacidade invasora e enfraquecimento do organismo do doente. Councilman (82) estabeleceu que todo doente que morre de varíola, morre de infecção estreptocócica.

A escarlatina é uma infecção causada primariamente por um estreptococo hemolítico. Em torno da sua etiologia houve uma grande controvérsia, tendo sido mais de uma vez afirmado que o seu verdadeiro agente causador era um virus filtravel, representando o estreptococo apenas o papel de germe de associação ou de infecção secundária. Com a inoculação do estreptococo hemolítico não se consegue a reprodução da moléstia em animais de laboratório; o tipo da infecção experimental varia com a via de introdução do material e com a virulência da amostra inoculada. Para provar, entretanto, a origem estreptocócica da escarlatina, existe uma série de provas imuno-bacteriológicas, entre as quais se destacam: presença constante de estreptococo hemolítico na angina, sendo o responsavel pela difusão da toxina no organismo; reprodução do eritema por meio da toxina estreptocócica (*reação de Dick*) somente nos indivíduos sensiveis à escarlatina; provas de aglutinação com o estreptococo pelo soro do doente ou de convalescente da doença; neutralização da toxina eritematogênica pela antitoxina correspondente (*albo-reação de Schultz & Charlton*); poder curativo do soro anti-estreptocócico.

Desde que haja um foco de infecção, cutânea ou interno, há, evidentemente, uma reação do organismo que se caracteriza pela formação de anticorpos. No plasma de doentes de Pênfigo Foliaceo demonstramos a presença precoce da antifibrinolisina. Podemos adiantar que evidenciamos outros anticorpos estreptococicos no sangue dos penfigosos, assunto que constituirá objeto de trabalhos a se-

rem publicados brevemente, visando a resposta imunitária do doente, segundo a fase e forma clínica da moléstia cutânea.

Levando em valimento as pesquisas que elaboramos, temos a impressão que para se esclarecer a origem estreptocócica do Pênfigo seria de alto interesse a prova terapêutica, consistindo na imunoterapia, dentro das normas que indicamos no capítulo anterior, associada ou não à quimioterapia anti-bacteriana. Acrescentamos àquelas indicações que, no tratamento das infecções estreptocócicas graves, se obteem melhores resultados com a combinação das sulfanilamidas com o soro anti-estreptocócico misto e homólogo. A associação de um soro anti-tóxico à sulfanilamidoterapia permitiria a utilização de doses satisfatórias dêsse medicamento, sabendo-se que o soro age principalmente sôbre a toxemia por neutralização da toxina.

Concluindo a série de considerações em tôrno das pesquisas bacteriológicas por nós realizadas, acreditamos que os seguintes achados ficaram bem patenteados:

1.º — A toxi-infecção estreptocócica desempenha importante papel no Pênfigo Foliaceo.

2.º — Um estreptococo hemolitico do grupo A, toxígeno e fibrinolítico, particularmente virulento para camondongos, com os caracteres biológicos do *Streptococcus pyogenes,* foi isolado com constância das lesões cutâneas e, em menor percentagem, da corrente sanguínea.

3.º — O mesmo germe foi isolado de órgãos de necrópsias e de punções cardiacas efetuadas em seguida à morte, parecendo, entretanto, havendo uma disseminação estreptocócica *post-mortem,* processando-se logo nas primeiras horas após o óbito.

4.º — Foi demonstrada a presença de uma anti-fibrinolisina no plasma dos penfigosos.

5.º — Os estreptococos hemoliticos acarretam evidentes alterações na fisionomia clínica cutânea e geral, podendo trazer complicações fatais para os doentes.

6.º — A gravidade da infecção cutânea e as suas repercussões no organismo estão diretamente ligados à presença e virulência dos estreptococos hemolíticos.

7.º — Os líquidos de bolhas límpidas, na fase inicial da moléstia, são geralmente amicrobianos; todavia, sempre se isolaram estreptococos das crostas e liquido de bolhas purulentas nesse período clínico.

8.º — Durante o período de invasão bolhosa, sem comprometimento total do tegumento externo, os piococos não ganham a corrente circulatória.

9.º — Nas formas clínicas generalizadas há predominância dos estreptococos hemoliticos na infecção cutânea, tanto nos casos em que a dermatose era de generalização recente quanto nos de longa evolução.

10.º — Mesmo nos doentes com a dermatose em regressão os resultados continuam mostrando a importância doa estreptococos na involução total das lesões tegumentares.

11.º — Na forma frusta, benigna e localizada, não há uma epidermo-estreptococcia intensa como nas outras formas clínicas; nos casos com a presença de estreptococos hemolíticos nas eflorescências cutâneas, a dermatose se alastra a todo o corpo.

12.º — Parece-nos questão pacífica que a infecção estreptocócica inicial seja originária do revestimento externo e que, somente depois da dermatose se generalizar, é vencida a proteção epidérmica; também só nesse estádio clínico é a corrente sanguínea exposta ao ataque de estreptococos e estafilococos, êstes em menor percentagem. Daí, o *deficit* orgânico dos doentes com formas clínicas generalizadas: além de privados total ou parcialmente das importantes funções fisiológicas da *cutis*, as quais pertencem às de proteção, excreção e termo-regulação, como as mais destacadas, têm o seu organismo permanentemente à mercê dos piococos e de suas toxinas difusíveis.

## CAPITULO XII

## RESUMO

As pesquisas realizadas e que constituiram o arcabouço para o presente trabalho, podem ser assim resumidas:

I — **Casos clínicos** — Foram estudados 160 doentes de Pênfigo Foliaceo. O material patológico constou de sangue, liquido de bolhas e crostas, provenientes de doentes em vários estádios clínicos, antes de ser iniciado qualquer tratamento, e de sangue colhido por punção cardiaca, fragmentos de órgãos e líquidos orgânicos anormais extraidos de necrópsias.

II — **Epidermoculturas.** — Exames bacteriológicos de eflorescências cutâneas realizadas em 55 casos iniciais, crônicos e de regressão. Os estreptococos foram isolados numa percentagem de 81,1%, a maioria pertencendo ao grupo hemolitico. Em vista da multiplicidade de formas clinicas, preferiu-se analisar cada uma de *"per si"*.

1) Forma de invasão bolhosa:
   a) Presença de estreptococos em liquido de bolhas limpidas = 0%.
   b) Presença de estreptococos em crostas e liquido de bolhas turvas = 100%.

2) Formas generalizadas crônicas:

a) Presença de estreptococos em cultura pura em liquido de bolhas limpidas = 33,33%.

b) Presença de estreptococos em bolhas purulentas e em crostas = 100%.

3) Forma frusta:

Presença de estreptococos em lesões externas = 25%.

a) Estreptococos hemolíticos = 12.5%.

b) Estreptococos inertes = 12.5%.

4) Formas em regressão:

A percentagem de positividade foi de 62,5%.

5) Casos clinicamente curados:

Não foram encontrados estreptococos.

III — **Hemoculturas.** — Foram praticadas em 150 doentes, nos diversos estádios clinicos da moléstia, sem seleção de casos, assim classificados:

| | |
|---|---|
| Fase inicial de invasão bolhosa ........... | 36 |
| Formas generalizadas crônicas ............ | 82 |
| Forma distrófica .......................... | 15 |
| Forma frusta ............................. | 12 |
| Dermatose em aparente regressão clínica .... | 5 |

Os resultados foram os seguintes:

1) Doentes com hemoculturas positivas para estreptococos = 19 ou 12,6%. Apenas duas amostras pertenciam ao grupo *alfa* (inertes), sendo as demais do grupo *beta* (hemoliticos).

2) Doentes com hemoculturas positivas para estafilococos = 5 ou 3,3%. Somente u'a mostra foi classificada na variedade *aureus;* as demais eram *albus.*

3) A letalidade para os doentes com hemoculturas positivas para estreptococos foi de 73,7%; nas positivas para estafilococos a letalidade foi bem mais reduzida: 20% (um caso fatal em cinco).

IV — **Verificações bacteriológicas "ante e post-mortem".**

a) Necrópsias: — Efetuadas em sua maioria nas primeiras 24 horas depois do óbito. Das 24 necrópsias praticadas foi colhido material do coração, baço, fígado, cérebro, rim, derrame do pericárdio, medula óssea, derrame peritoneal, bile vesicular, pulmão e abcesso pélvico.

Os estreptococos foram isolados em percentagem de 95,7%, sendo em cultura pura em 4 necrópsias (16,6%) e associados a outros germes em 19 necrópsias (79.1%). Quasi todas as amostras pertenciam ao grupo *beta*-hemolítico.

b) *Punções cardíacas*: — As punções cardíacas foram realizadas em 12 cadáveres, nas primeiras horas depois da morte, sendo o seu principal escopo afastar as causas de erros decorrentes da demora das necrópsias, dando os seguintes resultados:

1) Presença de estreptococos (total): 66,6% (em 8 punções):
2) Estreptococos hemolíticos isolados em cultura pura: 25,0%;
3) Estreptococos hemolíticos associados a outros germes: 41,6%.

c) *Hemoculturas "ante-mortem"*: — O fito dessas pesquisas foi verificar se havia invasão de germes na corrente sanguínea nos dias que precedem à morte ou durante a agonia. A colheita de sangue variou entre 3 horas e 17 dias antes da morte, estando os doentes em franca fase pré-agônica. Apenas 2, em 11 hemoculturas, tiveram resultado positivo para estreptococos hemolíticos (percentagem de 18,1%).

V — **Outras dermatoses.** — Outras dermatoses bolhosas essenciais pertencentes ao grupo do Pênfigo foram estudadas, sendo 5 casos de Dermatite Herpetiforme de Duhring, 1 caso de Pênfigo Vegetante e 1 caso de Pênfigo Agudo Febril.

VI — **Controle das necrópsias.** — Para o controle das necrópsias dos casos de Pênfigo Tropical, foram efetuadas pesquisas necróticas, em idênticas condições técnicas, em 12 cadáveres cujo óbito foi motivado por outras doenças. Nas semeaduras de material de 2 necrópsias houve crescimento de estreptococos hemolíticos do grupo A.

VII — **Identificação dos Estreptococos.** — Foram bem estudadas 42 amostras isoladas de Pênfigo Foliaceo, sendo 39 hemolíticas. A identificação foi procedida também em estreptococos hemolíticos originários de casos de dermatite herpetiforme de Duhring, liquen plano impetiginado, eritrodermia arsenical com infecção secundária, úlcera da perna por traumatismo, tuberculose pulmonar e sarcoma do braço com metástases generalizadas; dêsses dois últimos casos os estreptococos foram isolados de material necrótico. A título de controle realizou-se a classificação bio-sorológica em 4 amostras de *Streptococcus pyogenes* de escarlatina (Dochez, N. Y. 5), febre puerperal, erisipela e reumatismo.

Os caracteres primordiais dos estreptococos hemolíticos de "Fogo Selvagem" são idênticos aos de *Streptococcus pyogenes*:

Produzem hemólise do tipo *beta*.

Pertencem ao grupo sorológico *A* da classificação de Lancefield.

Não crescem a 10°, a 45°, em meio com 6,5% de NaCl, em meio com pH a 9,6 e em agar-sangue biliado.

Insoluveis em bile.

Não hidrolizam o hipurato de sódio.

Produzem amônia de peptona.

Acidificam: dextrose, levulose, galactose, manose, sacarose, maltose, lactose, trealose, dextrina, amido, salicina. Não acidificam: arabinose, xilose, melibiose, rafinose, inulina, eritrita, manita, sorbita, dulcita, adonita, ramnose, amigdalina, inosita, nutrose, glicina.

Acidificam facultativamente: glicerina e esculina.

Patogênicos, por via peritoneal, para coelhos (26,1%), cobáios (35,7%), ratos (69%) e camondongos (90,4%).

Produzem uma toxina eritematogênica.

Digerem a fibrina humana.

VIII — **Conclusões:**

1.º — A toxi-infecção estreptocócica desempenha importante papel do Pênfigo Foliaceo.

2.º — Um estreptococo hemolítico do grupo *A*, toxígeno e fibrinolítico, particularmente virulento para camondongos, com os caracteres biológicos do *Streptococcus pyogenes*, foi isolado com constância das lesões cutâneas e, em menor percentagem, da corrente sanguínea.

3.º — O mesmo germe foi isolado de órgãos de necrópsias e de punções cardíacas efetuadas em seguida à morte, parecendo, entretanto, haver uma disseminação estreptocócica *post-mortem*, processando-se ogo nas primeiras horas após o óbito.

4.º — Foi demonstrada a presença de uma anti-fibrinolisina no plasma dos penfigosos.

5.º — Os estreptococos hemolíticos acarretam evidentes alterações na fisionomia clínica cutânea e geral, podendo trazer complicações fatais para os doentes.

6.º — A gravidade da infecção cutânea e as suas repercussões no organismo estão diretamente ligadas à presença e virulência dos estreptococos hemolíticos.

7.º — Os liquidos de bolhas límpidas, na fase inicial da moléstia, são geralmente amicrobianos; todavia, sempre se isolaram estreptococos nas crostas e liquidos de bolhas purulentas nesse período clinico.

8.º — Durante o periodo de invasão bolhosa, seu comprometimento total do tegumento externo, os piccocos não ganham a corrente circulatória.

9.º — Nas formas clinicas generalizadas há predominância dos estreptococos hemolíticos na infecção cutânea, tanto nos casos em que a dermatose era de generalização recente quanto nos de longa evolução.

10.º — Mesmo nos doentes com a dermatose em regressão os resultados continuam mostrando a importância dos estreptococos na involução total das lesões tegumentares.

11.º — Na forma frusta, benigna e localizada, não há uma epidermo-estreptococcica intensa como nas outras formas clínicas: nos casos com a presença de estreptococos hemolíticos nas eflorescências cutâneas, a dermatose se alastra a todo o corpo.

12.º — Parece-nos questão pacífica que a infecção estreptocócica inicial seja originária do revestimento externo e que, somente depois da dermatose se generalizar, é vencida a proteção epidérmica; também só nesse estádio clínico é a corrente sanguínea exposta ao ataque de estreptococos e estafilococos, êstes em menor percentagem. Daí o *deficit* orgânico dos doentes com formas clínicas generalizadas: além de privados total ou parcialmente das importantes funções fisiológicas da *cutis*, as quais pertencem as de proteção, excreção e termo-regulação, como as mais destacadas, têm o seu organismo permanentemente à mercê dos piococos e de suas toxinas difusíveis.


## ABSTRACT

The researches we made were the skeleton for this work and can be summarized in the following manner:

I. *Clinical cases.* — 160 patients of Pemphigus Foliaceous were studied. The pathological material consisted in blood, liquid of vesicles and crusts, from patients in various clinical stages before beginning any treatment, and from blood gathered by cardiac puncture, fragments of abnormal organs and organic liquids obtaned by necropsies.

II. *Epidermic Cultures.* — Bacteriological experiments of efflorescences made in 55 incipient, chronic and regressive cases. The streptococci were isolated in a percentage of 81,1%, pertaining, chiefly, to the hemolytic group. Because of the great variety of clinical types, a separated analysis of each one of them was preferred.

1) Bullous invasion type

a) Presence of streptococci in liquid of clear vesicles = 0%.

b) Presence of streptococci in crusts and liquid of turbid vesicles = 100%.

2) Chronic generalized types

a) Presence of streptococci of pure culture in liquid of clear vesicles = 33,33%.

b) Presence of streptococci in purulent vesicles and crusts = 100%.

3) Frust type

Presence of streptococci in external lesions = 25%.

a) Hemolytic streptococci = 12.5%.

b) Indifferent streptococci = 12.5%.

4) Regressive types

The positive percentage was of 62.5%.

5) Cases clinically cured

No streptococci were found.

III. *Hemocultures* were made in 150 patients, during the various clinical stages of the disease, without selection of cases classified as folows:

| | |
|---|---|
| Early stage of bullous invasion ..................... | 36 |
| Chronic generalized types .......................... | 82 |
| Distrophic type ..................................... | 15 |
| Frust type .......................................... | 12 |
| Dermatosis in apparent clinical regression. ............ | 5 |

The following results were obtained:

1) Patients with positive hemocultures for streptococci = 19 or 12,6%.

Only two samples pertained to the *alpha* (indifferent) group, being the remaining of the *beta* (hemolytic) group.

2) Patients with positive hemocultures for staphylococci = 5 or 3.3%.

Only one sample was classified in the *aureus* species; all the rest were *albus*.

3) The lethality of patients with positive hemocultures for streptococci was of 73,7%, and the lethality of ones with positive hemocultures for staphylococci was much more reduced: 20% (One out of five cases was fatal).

IV. *Bacteriological premortal and postmortem examinations.*

a) *Necropsies*: — The necropsies were carried out, chiefly, in the first 24 hours after death. Material from the heart, spleen, liver, brain, kidney, bleeding from the pericardium, marrow bone, peritoneal bleeding, vesicular bile, lung and pelvic abscess, was gathered from the 24 necropsies effectuated. The streptococci were isolated in a percentage of 95,7%, being of pure culture in 4 necropsies

(16,6%), and associated with other germs in 19 necropsies (79,1%). Almost all samples pertained to the beta-hemolytic group.

b) *Cardiac punctures*: — The cardiac punctures were carried out in 12 corpses, during the first hours after death, in order to avoid the causes of errors by consequence of the delay of necropsies. These were the results:

1) Presence of streptococci (total): 66,6% (in 8 punctures):
2) Hemolytic streptococci isolated in pure culture: 25.0%.
3) Hemolytic streptococci associated with other germs: 41,6%.

c) *Premortal hemocultures*: — The aim of these researches was to verify if there was invasion of bacteria in the blood stream on the days preceding death or during agony. The blood gathering varied between 3 hours and 17 days before death; the patients were in a frank preagonic period. Only 2 out of 11 hemocultures gave a positive result for hemolytic streptococci (percentage of 18,1%).

V. *Other dermatoses.* — Other essential bullous dermatoses pertaining to the Pemphigus group were studied, being 5 out of the studied cases of Duhring's disease (Dermatitis Herpetiformis), 1 of Pemphigus Vegetans (Neumann's disease), and 1 of Febrile Pemphigus (Pemphigus Acutus).

VI. *Control of necropsies.* — In order to control the necropsies of the cases of Pemphigus Foliaceous, some necrotic researches were made by the same technical conditions, in twelve corpses whose death was caused by other diseases. There was growth of group A hemolytic streptococci in the seeding material of 2 out of the necropsies.

VII. *Recognition of the streptococci.* — 42 samples isolated from Pemphigus were studied; 39 out of them were hemolytic. The recognition was also carried out in hemolytic streptococci from cases of Duhring's disease (Dermatites Herpetiformis), impetiginous lichen planus, arsenical erythrodermia with secundary infection, ulcer of the leg caused by traumatism, tuberculosis of the lungs, and sarcoma of the arm with generalized metastases; the streptococci from the two latter cases were isolated from necrotic material. As control, the bioserological classification was made in 4 samples of *Streptococcus pyogenes* (*scarlatinae* (Dochez. N. Y. 5), puerperal fever, erysipelas and reumatism).

The primordial characters of the hemolytic streptococci of *Pemphigus Foliaceous* and of the *Streptococcus pyogenes* are the same:

Produce beta hemolysis.

Pertain to the serologic group A of Lancefield's classification.

No growth at 10º or 45º in a medium of NaCl at 6.5%, in a medium of pH at 9.6 and in bilious blood agar.

Insoluble in bile.

No hydrolysis of sodium hippurate.

Ammonia is produced from peptone.

Acid from dextrose, levulose, galactose, mannose, saccharose, maltose, lactose, trehalose, dextrin, amido, salicin.

No acid from arabinose, xylose, melibiose, raffinose, inulin, erythriol, mannitol, sorbitol, dulcitol, adonitol, ramnose, amygdaline, inositol, nutrose, glycine.

Facultative acid from glycerine and esculin.

By peritoneal route, pathogenic for rabbits (26.1%), guinea-pigs (35.7%), rats (69%) and mice (90.4%).

An erythrogenic toxin is produced.

Dissolve human fibrin.

VIII. *Conclusions.*

1.º The streptococcic toxinfection has a great role in the Pemphigus Foliaceous.

2.º A toxigenic and fibronogenic hemolytic streptococcus of group A, particularly virulent for mice, presenting the biological characters of the *Streptococcus pyogenes*, was constantly isolated from the skin lesions; the percentage from the blood stream was lower.

3.º The same germ was isolated from the organs of necropsies and from the cardiac punctures made just after death; it seemed, however, that a postmortem streptococcic dissemination took place just after the first hours of death.

4.º The presence of an antifibrinolysin in the plasma of patients of Pemphigus was demonstrated.

5.º The hemolytic streptococci cause obvious changes in the cutaneous and general clinical aspects, and may arise fatal complications in the patients.

6.º The seriousness of the cutaneous infection and its repercussions in the body are directly connected to the presence and virulence of the hemolytic streptococci.

7.º The liquid of clear vesicles, in the early stage of the disease are generally amicrobic; nevertheless, streptococci were always isolated from the crusts and liquids purulent vesicles, in this clinical stage.

8.º Duhring the period of bullous invasion, without a total involvement of the external tegument, the piococci do not attack the blood stream.

9.º In the cutaneos infection of the generalized clinical types the hemolytic streptococci are not only predominant in the cases of dermatosis recently genaralized, but also in those of long evolution.

10.º Even in the patients with a retrograde dermatosis, the results continue to show the importance of the streptococci in the total involution of the tegumentar lesions.

11.º In the benign and localized frust type there is no intense epidermic streptococcic infection as in other clinical types: in cases with hemolytic streptococci in the efflorescences, the dermatosis spreads all over the body.

12.º It seems to be out of question that the streptococcic infection may have its origin from the outer integument, and that only after the generalization of the dermatosis the epidermic protection is yielded; and it is only in this clinical stage that the blood stream is exposed to the attack of streptococci and staphylococci; the latter in a lower rate. Therefore, the organic *deficit* of the patients presenting generalized clinical types: besides being totally or parcially deprived of the important physiological functions of the *cutis*, as protection, excretion and thermoregulation, the chief ones, they have their bodies in a permanent exposure to the pyococci and their diffusible toxins.

---

Agradecimento: — Na parte técnica, em todas as fases deste trabalho, tivemos a cooperação direta das nossas competentes auxiliares Sta. Glaucia Walkiria Lisbôa e Sra Martha Trigo Vallery. A ambas somos sinceramente gratos.

Os enfermeiros cheies do Instituto "Adhemar de Barros", Sta. Duilia Orlandi e Sr Nicolau Paegle, muito nos ajudaram na colheita de material e consignamos aqui o nosso reconhecimento.

Ainda agradecemos à Sra. Aracy Prado, arquivista e datilógrafa, pela bôa vontade e esmero com que desempenhou o seu mistér; à Sta. Sarah Marcondes Machado, desenhista, que ilustrou a nossa monografia com excelentes gráficos; e, ao Sr. Clemente Marmo, fotógrafo, que não poupou esforços para que as fotografias tivessem a melhor nitidês.

Deixamos por fim o nosso profundo agradecimento ao Dr. João Paulo Vieira, D. D. Diretor do Serviço do Pênfigo Foliaceo, pelas facilidades e decidido apoio que sempre merecemos de sua parte

## BIBLIOGRAFIA


1. *Lindenberg, A.* — Arq. Derm. Sif. S. Paulo 1:117.1937.
2. *Artigas, P. T. & Mourão, B. M.* — Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo 23:75.1939.
3. *Artigas, P. T. & Mourão, B. M.* — Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo 23:133.1939.
4. *Vieira, J. P. & Mourão, B. M.* — Semana de combate ao "Fogo Selvagem". Coletânea de trabalhos do Serviço do Pênfigo Foliaceo do Estado de S. Paulo. E. G. Rev. Trib., S. Paulo, 1940.
5. *Mourão, B. M.* — Arq. Derm. Sif. S. Paulo 5:53.1941
6. *Aleixo, A.* — *In Castro, O. Orsini* — Contribuição ao estudo do Pênfigo Foliaceo. Tese de livre-docência. Tip. Colombo, Belo-Horizonte, 1927.
7. *Vieira, J. P.* — Pub. Medicas 4:34.1937.
8. *Campos, J. Aranha* — Pênfigo Foliaceo (Fogo Selvagem). Aspectos Clinicos e epidemiológicos. Monografia. Cia. Melhoramentos, S. Paulo, 1942
9. *Eberson, F.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 8:204.1923.
10. *Schalek, A.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 11:232.1925.
11. *Sutton, R. L.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 11:232.1925.
12. *Schamberg, J. F.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 11:232.1925.
13. *McEwen, E. T.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 17:98.1928.
14. *Schamberg, J. F.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 17:98.1928
15. *Artom, M.* — Giorn. It. Derm. Sif. 5:1382.1928.
16. *Prochazka, R.* — Zentralbl. f. Haut u. Geschlechtskr. 29:65.1929.
17. *Radaeli, F.* — Giorn. It. Derm. Sif. 9:37.1932.
18. *Mallard, Marie & Philibert* — Bul. Soc. Franc. Derm. Syph. 38:1262.1931
19. *Ciani, M.* — Il Dermosifilografo 6:109.1931.
20. *Manca, V. P.* — Giorn. It. Derm. Sif. 9:210.1932
21. *Grace, A. W.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 30:22.1934.
22. *Welsch, A. L.* — Arch. Derm. Syph. (Chicago) 30:611.1934.
23. *Bona, T.* — The Urol. Cut. Review 38:362.1934.
24. *Casazza, R.* — Bol. Sez. Reg. (Milano) 14:168.1936.
25. *Leone, R.* — Giorn. It. Derm. Sif. 16:365.1938.
26. *Vieira, J. P.* — Novas Contribuições ao estudo do Pênfigo Foliaceo (Fogo Selvagem) Monografia. E. G. Rev. Tribunais. S. Paulo, 1940.
27. *Paranhos, U. & Pedroso, A.* — Gaz. Clinica S. Paulo 9:105.1909.
28. *Vieira, J. P.* — Brasil Médico 36:117.1922.
29. *Artom, M.* — Arq. Derm. Sif. S. Paulo 5:44.1941.
30. *Guimarães, J. R. G.* — Arq. Derm. Sif. S. Paulo 5:21.1941.
31. *Lancefield, R. C.* — Journ. Exp. Med. 97:41.1928.
32. *Lancefield, R. C.* — Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 38:473.1938.
33. *Wadsworth, A. B.* — Standard Methods of the Division of Lab. and Res. of the N. Y. St. Dep. of Health. Williams & Wilkins, Baltimore, 1939.
34. *Todd, E. W.* — Journ. Path. Bact. 47:423.1938.
35. *Dick, C. F. & Dick, G. H.* — Journ. Amer. Med. Assn. 93:1784.1929
36. *Tillet, W. S. & Garner R. L.* — Journ. Exp. Med. 58:485.1933.

37. *Duran-Reynald, F.* — Journ. Exp. Med. 58:161.1933.
38. *Menkin, J. J.* — Journ. Exp. Med. 57:977.1933.
39. *Bier, O.* — Bacteriologia e Imunologia em suas aplicações à Medicina e a Higiene. Cia. Melhoramentos. S. Paulo. 1942.
40. *Brown, J. H.* — The Use of Blood Agar for the Study of Streptococci. Monografia Rockfeller Inst. Med. Res. (9). 1919.
41. *Kolmer, J. A. & Tuft, L.* — Clinical Immunology Biotherapy and Chemotherapy. W. B. Saunders Co.. Philadelphia. 1941.
42. *Sobouraud, R.* — Pyodermites et Eczémas. Masson & Cie. Paris, 1928.
43. *Gougerot, H.* — La Dermatologia en clientele. Lib. Maloine, Paris, 1939.
44. *Milian, G.* — *In* Nouvelle Pratique Dermatologique. IV vol. Masson & Cie. Paris, 1936.
45. *Frederi:* — Citado por *Hoxthausen* (49).
46. *Flehme, H.* — Derm. Zeitschr. 31:11.1920.
47. *Percival, G. H.* — Med. Res. Council, H. Maj. Stat Ofi., London 2:75.1929
48. *Photinos, Th.* — Bull. Soc. Franc. Syph. 34:194.1927.
49. *Hoxthousen, H.* — Ann. Derm. Syph. 8:201.1027.
50. *Solasso, M. R.* — Giorn. Batt. Imm. (Torine) 24:349.1940
51. *Hore, Pauli, Corburn* — in *Merchant, I. A.* — Veterinary Bacteriology. The Iowa State College Press (Iowa). 1940.
52. *Griffth, F.* — Journ. Hyg. (Cambridge) 34:542.1934.
53. *Todd, E. W.* — Journ. Hyg. (Cambridge) 39:1.1939.
54. *Sherman, M.* — Bact. Rev. 1:1-97.1937.
55. *Goy, F. P. et al* — Agents of Disease and Host Resistence. Baillière. Tindall & Cox, London. 1935.
56. *Planton, E. & Duran, P. F. & Hoyt, R. E.* — Journ. Amer. Med. Assn. 116:11.1941
57. *Bordet, J.* — Traité de l'Immunité dans les maladies infectieuses. Masson. Paris, 1939.
58. *Topley, W. W. C. & Wilson, G. S.* — The Principles of Bacteriology and Immunity. Edward Arnold & Co.. London. 1936.
59. *Colebrook, L.* — Min. Hlth. Int. Rep; Dep. Comm. Matern. Mortal. Mob., Apendice D., 1930.
60. *Holman, W. L.* — Journ. Med. Res. 34:377.1916.
61. *Rontz, L. A.* — Journ. Inf. Dis 71:61.1942.
62. *Rosenow, E. C.* — Journ. Inf. Dis. 36:525.1925
63. *Teichmann, J.* — Ztschr. f. Immuntatsforschg. u exp. Ther. 48:466.1926.
64. *Loewenthal* — in *Bier, O.* (39).
65. *Vieira, J. P.* — Pênfigo Foliaceo e Sindromo de Senear-Uscher Monografia. E. G. Rev. Tribunais, S. Paulo, 1942.
66. *Rabelo Junior, F. E.* — Arq. Derm. Sif. S. Paulo 5:7.1941
67. *Aragão, H. B.* — Mem. Inst. Oswaldo Cruz 3:309.1911.
68. *Aragão, H. B.* — Brasil Médico 47:187.1933.
69. *Arogão, H. B.* — Brasil Médico 47:187.1933.
70. *Darier, J.* — Precis de Dermatologie. Masson & Cie., Paris, 1928.
71. *Simonds, J. S. & Taylor, R. E.* — Journ. Amer. Med. Assn. 72:1885.1919.
72. *Sabouraud, R.* — Carta dirigida a Vieira, J. P. (26).
73. *Artigas, P. T. & Mourão, B. M.* — Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo 23:139.1939
74. *Coutinho, E.* — Tratado de Clínica das Doenças Infectuosas e Parasitárias. Pimenta de Mello & Cia., Rio de Janeiro, 1939.
75. *Aschar, H.* — Memórias Instituto Butantan 15:399.1941.

76. *Guimarães, J. R. A. & Mourão, B. M.* — Brasil Médico **56**:125.1942.
77. *Guimarães, J. R. A.* — Arq. Cir. Clin. Exp. S. Paulo **6**:1383.1942.
78. *Mourão, B. M. & Guimarães, J. R. A.* — Brasil Médico **55**:657.1941.
79. *Alayon, F. L.* — Relatório enviado ao Diretor do Serviço do Pênfigo Foliaceo em Maio de 1941. Arquivo do Instituto "Conde de Lara", S. Paulo.
80. *Darnell, W. G.* — Amer. Jour. Med. Sci. **158**:216.1919.
81. *Cecil, R. L.; Baldwin, H. S. & Larsen, N. P.* — Arch. Int. Med. **40**:253.1927.
82. *Arnold, L.; Gustafson, C. J.; Montgomery, B. E.; Hull, T. G. & Singer, C.* — Amer. Jour. Hyg. **11**:345.1930.
83. *Councilman* — Citado por *Schamberg* (14).

(Trabalho do Instituto de Leprologia "Conde de Lara" (Laboratório de Bacteriologia do Serviço de Pênfigo Foliaceo) e do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 13 de julho de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 194[illegible]).